

1117

1103

Etiologia do cancro

113/10 ENC

N.º 10

CARLOS DE MENEZES ANTUNES LEMOS

Etiologia do cancro

(CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA ETIOLOGIA
DOS TUMORES MALIGNOS)

DISSERTAÇÃO INAUGURAL



PORTO

Typ. a vapor de Arthur José de Souza & Irmão
66, Largo de S. Domingos, 67

1903

113/10 ENC

ESCOLA MEDICO-CIRURGICA DO PORTO

DIRECTOR

ANTONIO JOAQUIM DE MORAES CALDAS

LENTE-SECRETARIO

CLEMENTE JOAQUIM DOS SANTOS PINTO

CORPO DOCENTE

Lentes Cathedratricos

1. ^a Cadeira — Anatomia descriptiva geral	Carlos Alberto de Lima.
2. ^a Cadeira — Physiologia	Antonio Placido da Costa.
3. ^a Cadeira — Historia natural dos medicamentos e materia medica.	Illydio Ayres Pereira do Valle.
4. ^a Cadeira — Pathologia externa e therapeutica externa.	Antonio Joaquim de Moraes Caldas.
5. ^a Cadeira — Medicina operatoria .	Clemente Joaquim dos Santos Pinto.
6. ^a Cadeira — Partos, doencas das mulheres de parto e dos recém-nascidos	Candido Augusto Corrêa de Pinho.
7. ^a Cadeira — Pathologia interna e therapeutica interna.	Antonio d'Oliveira Monteiro.
8. ^a Cadeira — Clinica medica	Antonio d'Azevedo Maia.
9. ^a Cadeira — Clinica cirurgica . . .	Roberto Bellarmino do Rosario Frias.
10. ^a Cadeira — Anatomia pathologica.	Augusto H. d'Almeida Brandão.
11. ^a Cadeira — Medicina legal	Maximiano A. d'Oliveira Lemos.
12. ^a Cadeira — Pathologia geral, semiologia e historia medica . . .	Alberto Pereira Pinto d'Aguiar.
13. ^a Cadeira — Hygiene publica e privada	João Lopes da Silva Martins Junior.
Pharmacia	Nuno Freire Dias Salgueiro.

Lentes jubilados

Secção medica	José d'Andrade Gramaxo.
Secção cirurgica	Pedro Augusto Dias.
	Dr. Agostinho Antonio do Souto.

Lentes substitutos

Secção medica	José Dias d'Almeida Junior.
	José Alfredo Mendes de Magalhães.
Secção cirurgica	Luiz de Freitas Viegas.
	Antonio Joaquim de Souza Junior.

Lente demonstrador

Secção cirurgica	Vaga.
----------------------------	-------

A Escola não responde pelas doutrinas expendidas na dissertação e enunciadas nas proposições.

(*Regulamento da Escola*, de 23 d'abril de 1840, art. 155.º)

À memória

de meu Pae

A minha Mãe

À memoria de meu avô

José Manoel de Menezes

A minha Avó

À memória

de meu irmão Raul

A meus irmãos

A MEUS TIOS

A MINHAS TIAS

A minhas Primas

A meus Primos

AO ILL.^{MO} E EX.^{MO} SNR.

Dr. Antonio Joaquim de Moraes Caldas

E SUA Ex.^{MA} FAMILIA



AO ILL.^{MO} E EX.^{MO} SNR.

Dr. Alberto d'Aguiar

Aos meus condiscipulos

E EM ESPECIAL:

Dr. José Guilherme Pacheco de Miranda

Dr. Raul Pacheco

Dr. Alvaro Correia Mourão

Dr. Raul Claro Outeiro



AOS MEUS AMIGOS

Alberto Nunes de Mattos

Augusto Guilherme de Souza Ribeiro

Dr. Carlos Michaëlis de Vasconcellos

Dr. Eduardo Machado

Januario Teixeira Duarte

Dr. Joaquim Herculano de Freitas e Silva

AO CORPO DOCENTE

DA

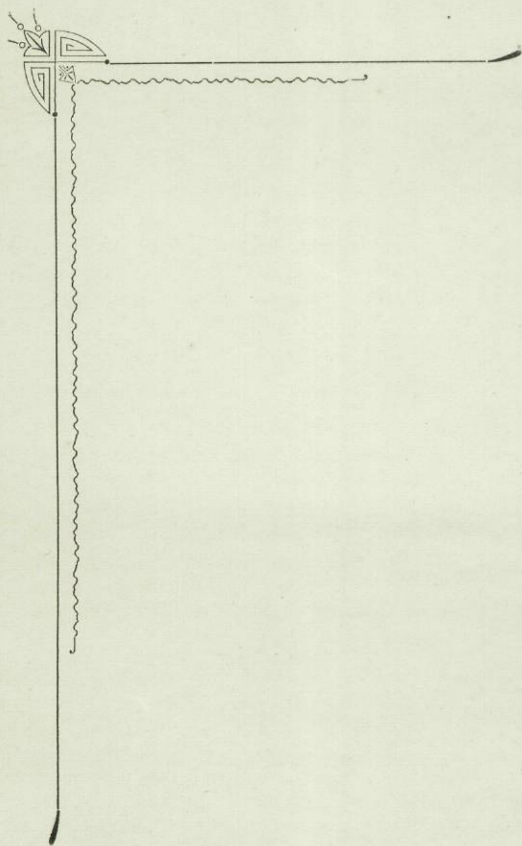
Escola Medico-Cirurgica do Porto

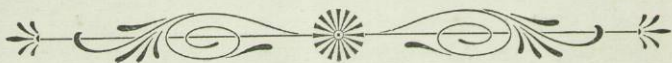
Ao meu Presidente

© Ill.^{mo} e Ex.^{mo} Snr.

Dr. Augusto Henrique d'Almeida Brandão

*Em testemunho de respeito e admiração
pelo seu talento.*





THEORIA parasitaria dos tumores malignos despertou em nosso espirito o interesse de estudar a sua etiologia, com o fim de esclarecer o que haveria de verdadeiro em assumpto de tão palpitante actualidade.

Ha já muito tempo que, no Laboratorio Nobre, devido á extrema amabilidade do Ex.^{mo} Professor Alberto d'Aguiar, a quem aqui consagramos o nosso reconhecimento, tentavamos investigar o agente etiologico d'estes tumores, mas, ou porque fossemos pouco feliz com os casos

que se nos depararam, ou mesmo por deficiência nossa, só ao fim de bastante trabalho conseguimos descobrir inclusões de natureza parasitaria, em cellulas de alguns carcinomas.

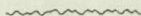
Como não fossemos tão feliz nas investigações sobre os outros tumores malignos, a aquelles limitaremos o nosso estudo etiologico.

A disposição que demos ao nosso trabalho, descrevendo primeiro a technica adoptada, para seguidamente entrarmos no estudo da Morphologia e Pathogenia, foi aquella que se nos afigurou melhor a fim de demonstrar a natureza parasitaria das inclusões encontradas.

Como documento das nossas investigações apresentamos, no fim d'este trabalho, as observações d'onde tirámos os elementos para a sua elaboração, e fazemol-as acompanhar de figuras, copia á camara clara de varias cellulas que, por nos parecerem typicas, tentámos reproduzir com a maior exactidão.

Resta-nos deixar consignado n'este lugar o

nosso agradecimento ao Professor von Leyden, da Universidade de Berlim, e ao seu Assistente Dr. Leonor Michaëlis, pelo valioso auxilio que nos prestaram pondo á nossa disposição o seu laboratorio e o seu muito saber.





INTRODUÇÃO

I



CANCRO, como se sabe, é uma doença já de ha muito conhecida e por muitas vezes descripta desde que existe historia da medicina, mas o problema da sua etiologia, que vem de longe prendendo a attenção de medicos e anatomopathologistas, tem ficado, até hoje, sem uma solução satisfactoria.

As doutrinas mais antigas — como a da irritação, de Virchow, a dos germens embryonarios congenitos de Cohnheim, a traumatica, a da hereditariedade ou mesmo a das inclusões ovulares de Critzman — teem sobretudo valor historico. Se-

gundo outras hypotheses vem a confundir-se a causa predisponente com a causa necessaria, ou então dá-se muito valor a factos de histogenese considerados como etiologicos. (Theoria de Ribbert.)

As hypotheses parasitarias que são as mais modernas, são aquellas que teem tido maior acceitação; mas os trabalhos até hoje apresentados têm soffrido sempre contestação por parte de certos histologistas que consideram as formas descriptas como parasitas, degenerescencias cellulares produzidas por um agente ainda desconhecido ou devidas simplesmente á evolução das proprias cellulas em proliferação monstruosa.

A.) **Theoria de Cohnheim**

A opinião de que os tumores fossem processos morbidos congenitos foi acceite durante muito tempo.

Para Cohnheim os tumores derivariam de inclusões fetaes provenientes do folheto embryonario que n'um dado momento, entrando em proliferação dariam origem ao neoplasma, constituido pela multiplicação das suas cellulas iniciaes.

Leopold, Kauffman, Zahn e Ferré tentaram mesmo varias experiencias em favor d'esta theoria, fazendo enxertos de tecidos embryonarios em animaes adultos da mesma especie, e julgaram ter obtido tumores. — Mas estes resultados foram contestados porque os taes tumores, que chegavam em alguns casos a attingir um certo volume eram quasi sempre rapidamente reabsorvidos. — Não se tractava de tumores, mas simplesmente de enxertos banaes como todos os dias se fazem em cirurgia. — Esta theoria que se não presta de modo algum a interpretar a genese dos tumores malignos, foi posta de parte depois de muito bem contestada por Quenu.

B.) Theoria de Critzman

A theoria de Critzman tem grande analogia com a de Cohnheim.

Critzman admite, não uma inclusão fetal mas uma inclusão ovular, de maneira que, segundo a sua propria expressão — «le cancer est le frère de l'individu qui le porte».

O author traz em favor da sua theoria certos

factos de observação, e no seu trabalho « Le cancer » apresenta um quadro com o fim de demonstrar a alternancia entre as prenhez gemellares e o cancro.

Esta theoria, que se não conforma de modo algum com os factos de observação não conseguiu encontrar adeptos e parece que só foi accete pelo seu author.

C.) **Theoria de Ribbert**

O prof. Ribbert que é um dos mais encarniçados adversarios da theoria parasitaria, e a quem não satisfazem nenhuma das theorias apresentadas até hoje, formulou uma theoria sobre a etiologia dos tumores que mais devia ser considerada theoria histogenetica.

No seu trabalho Ribbert chega á conclusão de que o desenvolvimento do cancro resulta de pequenos focos inflammados nos tecidos das camadas profundas da epiderme ou epithelio, os quaes separam e expellem as cellulas das camadas epitheliaes mais superficiaes para fóra das suas cercanias, e que estas poucas cellulas separadas — talvez

mesmo uma só — principiam a proliferar d'uma maneira desmesurada.

Ribbert fundamenta a sua theoria n'uma doutrina de Weigert que diz: cada cellula de um tecido é mantida em ordem pela concorrência das suas visinhas, arrançamento que desaparece desde o momento que a cellula se emancipe das suas dependencias normaes, apoderando se então, sem que nada a impeça, das substancias nutritivas que lhe estão francas, e principiando a crescer, a dividir-se e a proliferar indefinidamente.

Do que fica dito póde concluir-se que esta doutrina envolve uma theoria, aliás muito engenhosa, para explicar a histogenese dos tumores, mas nunca a etiologia. Assim a consideram a maioria dos tratadistas.

D.) Hereditariedade

A hereditariedade dos tumores gosou em tempos passados de um favor extraordinario. Eram apresentados em favor d'esta theoria certos argumentos como por exemplo as exostoses epiphysiareas as quaes — principalmente na infancia —

se desenvolviam nos mesmos membros de individuos da mesma familia. Mas com os elementos de que hoje dispomos nada se póde concluir em favor d'esta theoria.

As estatisticas sobre as quaes se baseiam as conclusões favoraveis a esta doutrina não são dignas de credito, por terem sido feitas no tempo em que se não sabia ainda fazer distincção histologica entre tumores e outras producções morbidas.

Das estatisticas mais modernas tambem nada se póde concluir; de resto nós tivemos occasião de sobejo para vêr a pouca importancia que tem a hereditariedade na producção dos tumores.

E.) Doutrina traumatica e irritativa

Os traumatismos e as irritações teem sido muitas vezes chamados a campo como intervindo directamente na origem dos tumores.

Emquanto aos traumatismos tem-se pretendido demonstrar o seu papel especialmente no desenvolvimento do cancro.

Virchow foi o primeiro a formular a hypothese que para o traumatismo, como factor do desenvol-

vimento de um tumor, tem grande importancia a disposição local do tecido. Cohnheim admittia como complemento da sua theoria que o traumatismo era capaz de accordar os germens embryonarios até ahi adormecidos.

Mas nós não devemos pôr de parte a hypothese, muito verosimil, de que o traumatismo incida sobre uma região ou órgão já attingido por um neoplasma ainda em estado latente e cuja evolução o traumatismo foi favorecer.

Egualmente se não póde negar o papel do traumatismo como podendo abrir a porta d'entrada a um agente infeccioso com intervenção directa na etiologia do cancro.

A irritação por agentes mechanicos, physicos ou chimicos, a acção das cicatrizes ou de processos pathologicos preexistentes, estão sujeitas ás mesmas objecções.

Concluindo: é licito affirmar que no estado actual da sciencia os traumatismos e as irritações podem intervir como causa occasional, mas nunca como causa necessaria na etiologia dos tumores.

F) Theorias parasitarias

O apparecimento das theorias parasitarias dos tumores é a consequencia immediata do desenvolvimento que tem adquirido, nos ultimos vinte annos, o estudo das doenças infecciosas.

As investigações tem versado especialmente sobre os tumores malignos, aquelles que mais se assemelham pelos seus caracteres ás doenças parasitarias.

A litteratura medica sobre a etiologia do cancro enriqueceu rapidamente nos ultimos annos; contam-se por centenas os trabalhos expostos e as theorias apresentadas; mas, infelizmente, foram mais uns tantos erros que vieram juntar-se aos muitos que já existiam.

A maior parte das theorias, desprovidas de criterio scientifico e de boa observação, nem mesmo são dignas de referencia.

Scheuerlen em differentes artigos na *Deutsche. med. Woch.* e em varios outros jornaes de medicina descreveu, em 1886, um bacillo, que elle dizia ter chegado a cultivar e a inocular, como sendo o parasita do cancro.

Quasi ao mesmo tempo, um brasileiro, Domingos Freire, relata na *Rev. Med. Cirurg. do Brazil* experiencias que o levaram á conclusão de ter descoberto um bacillo especifico do cancro.

Koubassof diz ter sido levado a conclusões analogas após numerosas experiencias.

Mas bem depressa P. Baumgarten demonstrou á evidencia que Scheuerlen, Freire e Koubassof não tinham isolado senão um saprophyta extremamente espalhado á superficie da pelle.

F. San Felice, estudando as leveduras e tendo chegado mesmo a cultivar-as e a inocular-as em cobaias, obteve lesões que elle compara ao carcinoma do homem. Mas um exame attento sobre o seu trabalho deixa facilmente vêr que as lesões apresentadas como carcinomatosas não passam de simples reacções inflammatorias que de resto se observam em presença de certos microbios de diferente natureza, e que as figuras consideradas como de parasitas são a imagem de simples degenerescencias ou infiltrações cellulares.

Tambem não são dignos de maior consideração os trabalhos de Roncagli e de Bra que admittem um cogumello parasita do cancro.

Petersen demonstrou claramente que não eram senão de degenerescencia, as figuras apresentadas por Darier, Wickam e Vincent como de esporozoários parasitas do cancro; Fabre-Domergue confirmando a opinião de Petersen apresentou todas as formas intermediarias entre as pseudo-coccideas, d'aquelles auctores, e a cellula epithelial.

Malassez, impressionado com a semelhança entre as formas e evolução da coccidea oviforme do figado do coelho e certas figuras observadas em cortes histologicos de kystos ovaricos, suggeriu a Albarran a ideia de investigar parasitas da mesma natureza nas neoplasias malignas.

Não tardou a apparecer um trabalho de Albarran no qual este auctor se propoz demonstrar que tinha encontrado o parasita do cancro que elle considerava como uma Psorospermia, mas Fabre-Domergue que fez um profundo estudo sobre o assumpto, identifica as Psorospermias de Albarran com figuras de degenerescencia.

Effectivamente a semelhança é tão flagrante, a analogia é tão evidente que não póde deixar duvidas em qualquer espirito.

Thoma, Nils-Sjöbring, Soudakewitch Fóa e

Bosc apresentam ainda trabalhos tendentes a demonstrar que é a esporozoários que deve attribuir-se a origem do cancro. A não ser o de Bosc são todos trabalhos muito incompletos, mas não se póde negar que em todos elles existem figuras de inclusão nitidamente parasitaria, das quaes não é feita comtudo a devida destriça com figuras de degenerescencia e inclusão phagocytaria. Mesmo em alguns casos nós estamos convencidos que um pouco de boa vontade dos auctores entrou na confecção de certos typos, necessarios á demonstração da natureza do parasita; leva-nos a esta conclusão o nunca termos encontrado figuras sequer comparaveis com grande numero de imagens apresentadas, especialmente por Bosc, como de fórmulas de evolução parasitaria.

Mais profundos são os estudos de Plimmer e von Leyden que fazem intervir amibas como agente etiologico do cancro, mas os trabalhos d'estes authores dispersos em varios artigos de jornaes de medicina estão longe de constituir um tratado sobre etiologia dos tumores.

II

O insuccesso dos experimentadores em nada vem prejudicar a ideia fundamental.

O agente etiologico do cancro continuou a ficar desconhecido, mas a theoria parasitaria, a unica admissivel, não se abalou no seu pedestal.

Effectivamente os factos de observação, como as verdadeiras epidemias de cancro, os casos de contagio — por tantas vezes constatados — e mesmo outros factos de ordem puramente clinica — como os cancros de evolução rapida, a generalisação e os casos de carcinose aguda que tanto fazem approximar o cancro de outras doenças reconhecidamente parasitarias, — têm de arrastar forçosamente todos os espiritos á convicção da origem infecciosa do cancro.

A necessidade de um ente animado, como agente etiologico do cancro, impõe se.

Resta determinál-o.

E' esta determinação que fará o assumpto do nosso trabalho.

PRIMEIRA PARTE

CAPITULO I

PESQUIZA DO PARASITA

Os trabalhos a que procedemos com o fim de investigar a presença de parasitas nos tecidos cancerosos levaram-nos á conclusão de que, tendo em vista certas particularidades de technica, se encontram em todos os cancros elementos anormaes que não são, de modo algum, passíveis das objecções até hoje feitas contra as figuras apresentadas pelos auctores que se teem dedicado ao estudo da etiologia do cancro.

TECHNICA DAS PREPARAÇÕES MICROSCOPICAS

Ainda que a technica a seguir na confecção de preparações destinadas á investigação das in-

clusões do cancro, não seja exclusiva d'esta ordem de trabalhos, ha comtudo particularidades, desprezadas as quaes, é impossivel obter resultados satisfatorios; assim: nós executamos, durante muito tempo, um sem numero de preparações sobre as quaes foram sempre sem resultado as pesquisas dos elementos que nos propunhamos encontrar, e só mais tarde, tendo nos aperfeiçoado na technica, é que conseguimos descobrir com relativa facilidade estas inclusões que uma preparação cuidada nos põe em evidencia d'um modo bem claro. E' isso que nos leva a descrever em todos os seus detalhes as differentes operações a executar.

A.) Córtes histologicos

Colheita do material d'estudo. — Fixação. — Endurecimento. — Impregnação. — Inclusão. — Córtes. — Collagem. — Coloração. — Montagem. — Exame.

Desde a colheita do material d'estudo até ao exame da preparação já concluida, toda esta serie de multiplas manipulações tem de ser cuidada o mais possivel sem desprezar as mais insignificantes minucias, sob pena de se não conseguir o fim desejado. A esta conclusão nos levou a desesperante

situação em que por muito tempo estivemos collocados antes de nos termos fixado sobre uma technica segura, unica garantia de um resultado sempre positivo.

1.) *Colheita do material d'estudo*

O material empregado deve ser fresco quanto possivel, não se devendo perder o ensejo de o receber directamente das mãos do operador, o que não quer dizer que se não possam obter boas preparações com material recolhido do cadaver.

Devem recolher-se fragmentos de diversas partes do tumor, quer do centro, quer da periphéria, sempre cortados com uma faca muito bem afiada para evitar o esmagamento dos tecidos e a perda das relações entre os differentes elementos.

O contacto com substancias desinfectantes, sempre prejudicial, deve ser evitado, sendo de aconselhar que os fragmentos do tumor sejam recolhidos asepticamente e immediatamente lançados no fixador.

II.) *Fixação.* — III.) *Endurecimento.* — IV.) *Impregnação.*
— V.) *Inclusão.*

Como, em geral, cada fixação exige processos de endurecimento, impregnação e inclusão especiaes descreveremos conjunctamente, para maior facilidade de exposição, estas quatro operações ao passo que nos formos referindo a cada fixador.

Seja qual fôr o processo empregado estas operações devem obedecer a um certo numero de regras geraes.

O poder de penetração dos fixadores não é, em geral, grande, por isso para obter uma bôa fixação os tecidos precisam de ser cortados em muitos pequenos fragmentos, não sendo de bôa technica servir-se de blocos cuja espessura exceda 4 ou 5 millimetros, ainda que possam ser mais folgadas as outras dimensões.

Na confecção dos blocos deve haver tambem o maior cuidado em não esmagar os tecidos que nunca devem ser fragmentados por meio de thesouras mesmo as mais bem afiadas.

O volume de liquido fixador empregado deve ser 10 a 20 vezes maior do que o do bloco.

O fixador deve actuar por todas as faces do bloco que para isso tem de sêr collocado sobre algodão ou papel de filtro.

A demora prolongada quer no alchool absoluto quer na paraffina em fusão, tornando os tecidos muito rígidos e difficilmente cortaveis, deve ser evitada.

Lançada a peça no molde é de toda a conveniencia, fazer solidificar rapidamente a paraffina, por immersão em agua fria para evitar a formação de crystaes d'aquella substancia que em muito vi-riam prejudicar a confecção dos córtes.

Fixadores

E' enorme a lista dos fixadores empregados em histologia e todos elles podem ser utilizados com mais ou menos bons resultados na confecção das nossas preparações, mas nós limitar-nos-hemos a fazer referencia áquelles que melhores se nos affiguram quer emquanto aos resultados finaes quer mesmo emquanto ao tempo que demandam na execução da sua technica, particularidade que deve ser pesada por quem tem de executar tão grande numero de preparações.

Aquelles de que mais usamos foram — O al cool — O sublimado — O formol — A agua em ebullição e o liquido de Flemming.

1.º — Alcool

E' um dos fixadores mais usados em histologia e que nos deu quasi sempre magnificos resultados, sendo apenas necessario attender á rigorosa execução da technica, como de resto para os demais.

Servimo-nos quer do alcool a 96º quer mesmo do alcool absoluto; este ultimo quando actua durante muito tempo provoca em geral a retracção dos tecidos, mas Schmorl emprega-o sem este inconveniente por um processo que adeante descreveremos.

α. Processo ordinario

I. *Fixação.*

Alcool a 96º 24 horas

II. *Endurecimento e impregnação.*

	Alcool absoluto	24 horas
	Novo alcool absoluto	» »
	Xylol	» »
No thermostato a 56º	{ Xylol-Paraffina (1)	» »
	{ Paraffina fusivel a 42º.	12 »
	{ Paraffina fusivel a 52º.	» »

(1) Xylol quanto baste para dissolver a paraffina.

III. *Inclusão.*

Na ultima paraffina.

Os tempos de permanencia nos differentes meios poderão ser reduzidos a metade quando as dimensões do bloco sejam muito pequenas.

β. *Processo de Schmorl*

Com este processo os blocos devem ser de dimensões minimas; o pouco tempo que o fixador actua impediria certamente uma boa fixação em fragmentos de grandes dimensões.

I. *Fixação.*

Alcool absoluto	3 horas
Novo alcool absoluto	1 hora

II. *Endurecimento e impregnação.*

Oleo d'anilina — Tanto tempo quanto necessario fôr para a peça ficar transparente — (1 a 3 horas approximadamente).

No ther- mostato a 56°	Oleo d'anilina.	10 minutos
	Paraffina, fusivel a 52°.	2-3 horas

III. *Inclusão.*

Na mesma paraffina.

Este processo tem a recommendal-o a grande rapidez com que nos permite executar uma pre-

paração, vantagem que nenhum dos outros nos oferece; em compensação nem sempre os resultados com elle obtidos são tão nitidos como com os outros, mas nós não o deixaremos de indicar especialmente em preparações de urgencia.

2.º — Sublimado

O sublimado em soluto aquoso saturado foi o fixador de que mais vulgarmente usámos, as suas boas qualidades têm sido por muitas vezes postas em evidencia pelos differentes histologistas e as nossas preparações vieram mais uma vez confirmal-o.

Eis a technica seguida:

I. *Fixação.*

Soluto aquoso saturado de sublimado . . . 24 horas

II. *Endurecimento e impregnação.*

Alcool a 66º . . .	} Adicionados de tintura de iodo na proporção de 5 p. c. (1) .	} 24 horas em cada um
Alcool a 80º . . .		
Alcool a 90º . . .		
Alcool absoluto		24 horas
Novo alcool absoluto		» »

(1) A lavagem em agua corrente durante 24 horas precedendo o endurecimento substitue a addição da tintura d'iodo.

No thermostato a 50°	Alcool-chloroformio (1)	24 horas
	Chloroformio	» »
	Chloroformio-Paraffina (2)	» »
	Paraffina fusível a 42°.	12 »
	Paraffina fusível a 52°.	12 »

III. *Inclusão.*

Na ultima paraffina.

O chloroformio pode ser, sem inconveniente, substituido pelo sulfureto de carbono (Processo de L. Michaëlis).

Para fragmentos muito pequenos os tempos pôdem ser reduzidos a metade.

O unico inconveniente da fixação pelo sublimado é o enorme tempo que demanda para se executar, mas os resultados obtidos e a facilidade de encontrar horas commodas durante o dia para fazer a substituição dos differentes meios compensam-n'o sobre maneira.

As preparações fixas em sublimado podem côrar-se por todos os processos.

3.º — Formol

O formol em differentes diluições proporciona-nos preparações em que não só a fixação nada

(1) Mistura em partes eguaes.

(2) Chloroformio quanto baste para dissolver a paraffina.

nos deixa a desejar, mas também que permitem todas as colorações.

Empregamo-l'ò em solutos aquosos cuja concentração variou entre 4 e 10 por cento e deixavamo-l'ò actuar 3 a 24 horas, conforme o tamanho do bloco e a concentração da solução.

O endurecimento e a inclusão foram sempre feitos pelo mesmo processo que quando nos serviamos do sublimado como fixador, precedidos ou não de lavagem em água corrente durante 24 horas.

A permanencia mais prolongada das peças em formol não prejudica o resultado final da preparação. O formol deve ser mesmo um dos meios preferidos de conservação.

4.º — Água em ebulição

Como processo rápido de fixação utilizamos algumas vezes da água em ebulição.

Os tecidos cortados em muito pequenos fragmentos eram imersos em água sempre fervente durante 5 a 10 minutos e terminada esta operação procedia-se ao endurecimento por qualquer dos processos que já descrevemos.

Por este meio obtivemos muitas vezes boas preparações, mas os resultados nem sempre são seguros, o que nos leva a aconselhar este processo só em ultimo caso, ou em preparações, nas quaes não haja necessidade de investigar pequenos detalhes.

5.º — Liquido de Flemming

O liquido de Flemming (acido chromo-acetoso) é desde muito empregado como um bom fixador. Elle dá effectivamente muito boas preparações todas as vezes que houver os indispensaveis cuidados na execução da technica. — Para este, talvez ainda mais do que para qualquer outro fixador, é de aconselhar o servir-se de pequenissimos blocos, dos quaes, ainda por prudencia, se devem aproveitar os córtes superficiaes, visto o pouco poder penetrante d'este liquido.

A formula que usámos para as nossas preparações é a vulgar:

Acido chromico	1,5
Acido osmico	0,5
Acido acetico puro	10,0
Agua distillada.	350,0

(Esta solução deve ser preparada de fresco e conservada ao abrigo do ar e da luz).

Technica:

I. *Fixação.*

Flemming 24 horas

II. *Endurecimento e impregnação.*

	Lavagem em agua corrente	24 horas
	Alcool a 66°	24 »
	» » 80°	24 »
	» » 90°	24 »
	» absoluto	6 »
	Novo alcool absoluto	6 »
	Alcool-chloroformio	12 »
	Chloroformio.	24 »
No thermostato	{ Chloroformio-paraffina	12 »
	{ Paraffina fusivel a 42°.	12 »
	{ » » 56°.	12 »

III. *Inclusão.*

N₃ ultima paraffina.

Depois de cortadas e colladas, as preparações fixas pelo Flemming devem ser tratadas por agua oxygenada (0,3 a 0,4 por cento) durante uma hora approximadamente com o fim de fazer desaparecer a côr negra que lhes imprime o acido osmico em virtude do seu poder reductor; muitas vezes, porém, o chloroformio empregado no endurecimento é sufficiente para evitar este inconveniente.

Os tecidos fixos pelo Flemming não ficam aptos a tomar todas as colorações, não servindo, por exemplo, quando se pretende córar por hematoxylina; no capitulo respectivo occupar-nos-hemos dos processos especiaes concernentes a este fixadôr.

Os liquidos fixadôres de Zenker, Muller e Ehrlich, o acido chromico e o acido osmico de baixo de differentes formulas tambem foram applicados em maior ou menor escala mas nenhum d'elles nos deu tão bons resultados como aquelles a que, por isso mesmo, mais minuciosamente nos referimos.

D'estes mesmos nós inclinamo-nos sempre mais para o alcool e para o sublimado porque não só não exigem uma technica tão longa e tão trabalhosa como tambem se prestam a todas as colorações destinadas á investigação das inclusões parasitarias.

São, portanto, estes dois ultimos que aconselhamos de preferencia.

VI.) *Córtes*

Da maneira como se fazem os córtes também depende em parte a nitidez das preparações. Servimo-nos quer dos microtomos vulgares quer dos de congelação, mas os primeiros deram-nos sempre melhores resultados talvez por os córtes serem feitos em peças incluídas em paraffina o que facilita em extremo a sua execução. A espessura variou entre 3 e 10 μ , prestando-se mais facilmente aos córtes finos as peças incluídas em paraffina de ponto de fusão mais elevado. Não são de vantagem os córtes extremamente finos; aquelles em que a espessura variava de 5 a 10 μ deixavam-se examinar com mais nitidez, mesmo que os mais delgados.

De cada peça se fizeram em todos os casos córtes em serie e o seu numero contou-se muitas vezes por centenas.

Uma faca muito bem afiada e um bom microtomo são condições sem as quaes se não podem obter boas preparações.

VII.) *Collagem*

Os córtes foram collados por capillaridade ou com albumina, mas o processo que melhor se nos affigura é o seguinte:

Limpa e desengordurada a lamina, quer pela lavagem com ether quer por flambagem n'um Bunsen, estende-se sobre ella uma pequenissima gotta de uma solução de albumina em glicerina (solução de Meyer), lançam-se então uma ou mais gottas de alcool ao terço sobre as quaes é collocado o corte e aquece-se levemente sobre a chama, tendo o cuidado de não deixar fundir a paraffina, e deixa-se permanecer a lamina 24 a 48 horas no thermostato a 36°, esperando que se complete a evaporação de todo o liquido, terminada a qual a preparação está apta a seguir as restantes operações.

Este processo serve em todos os casos mesmo para córtes extremamente finos que por outros methodos se enrugam e dão preparações defeituosas, e permitem a immersão prolongada da preparação nos liquidos corantes sem risco de descollar.

VIII.) *Coloração*

Não obstante as afirmações de alguns authors, não ha colorações propriamente especificas para as inclusões parasitarias. Todos ou quasi todos os corantes que vulgarmente se empregam em histologia as põem mais ou menos nitidamente em evidencia.

Os principaes methodos de coloração empregados foram :

O azul de Methylena, só ou misturado com a Eosina — segundo as formulas de May-Grünewald e Romanowsky-Michaëlis — a Thionina, o azul de Toluidina, o Violeta de genciana, o Triacido d'Ehrlich, a Hematoxylina ferrosa, a Hematoxylina-Eosina, a Hematoxylina-Bordeaux, o Bordeaux-Hematoxylina e a Safranina - Violeta de genciana - Orange G.

Alguns d'estes corantes, empregados por processos aliás muito pouco usados pelos histologistas, deram-nos bellos resultados, entrando n'este numero a Hematoxylina ferrosa e o Bordeaux-Hematoxylina aos quaes mais adeante nos referiremos minuciosamente.

Alem dos processos acima enumerados, servimo-nos de muitos outros que não descrevemos por entendermos que não devem ser aproveitados, limitando-nos áquelles que melhor põem em evidencia as differentes formas de inclusão celular.

1.º — Azul de methylena

O azul de methylena, em solutos antigos ou que foram previamente tratados pelas bases, deunos differenciações muito nitidas.

Technica:

- | | |
|---|----------------|
| I. — Coloração em azul de methylena (soluto aquoso a 1 ou 2 0/0). | 1-4 minutos |
| II. — Lavagem em agua. | |
| III. — Ligeira descoloração em acido acetico a 1/2 0/0. | 10-20 segundos |
| IV. — Lavagem em agua. | |
| V. — Alcool a 66º | 1/2 minuto |
| VI. — Alcool a 90º | » 2 |
| VII. — Alcool absoluto | » 0 |
| VIII. — Xylol. | 1 » |
| IX. — Montar em Balsamo do Canadá-Xylol. | |

A descoloração com acido acetico está indicada quando as preparações tiverem uma côr tão intensa que resista á acção dos alcooes.

O azul de methylena pode empregar-se em todas as preparações, menos nas fixas pelo Flemming.

Este corante dá magnificas differenciações, podendo pôr-se em evidencia as suas propriedades meta-chromaticas; para isso é melhor evitar a acção dos alcooes, sendo as preparações depois de córadas e lavadas, montadas em levulose.

2.º — Azul de methylena e eosina

(Processo de May e Grünewald)

Este processo empregado pelos seus auctores para corar os elementos figurados do sangue dá tambem bons resultados para as inclusões parasitarias.

Preparação do corante;

Misturam-se partes eguaes (um litro de cada) de solutos aquosos de azul de methylena e de eosina a 1 por mil e filtra-se ao fim de 24 horas.

Despreza-se o liquido filtrado e aproveita-se o precipitado que se lava com agua até que esta venha quasi incolor. Secca-se o precipitado ao thermostato e faz-se d'elle um soluto saturado em alcool methylico. D'esta fórma se obtem o corante.

Technica:

- I. — Corar com esta solução. $\frac{1}{2}$ a 2 minutos
- II. — Lavar rapidamente em agua.
- III. — Montar em Levulose.

ou então:

- I. — Corar $\frac{1}{2}$ a 2 minutos
- II. — Lavar rapidamente em agua.

III. — Alcool a 66°	15-20 segundos
IV. — Alcool a 90°	» »
V. — Alcool absoluto	» »
VI. — Xylol	1 minuto
VII. — Montar em Balsamo do Canadá-Xylol.	

E' necessario o maior cuidado com a coloração; se a preparação permanece muito pouco tempo no corante toma exclusivamente a cor azul, ao contrario a permanencia muito longa faz com que ella fique completamente vermelha, a eosina vae substituir o azul de methylena.

3.º — Azul de methylena e eosina

(Processo Romanowsky-Michaëlis)

Romanowsky servia-se d'este corante para a investigação dos parasitas da malaria, foi isto que nos levou a empregar-o para os nossos estudos visto que no primeiro caso tambem se tratava de inclusões parasitarias.

Não seguimos á risca o processo de Romanowsky, attendendo a que elle é muito fallivel, mas aproveitamol-o com as modificações que L. Michaëlis lhe introduziu.

Preparação do corante:

A 250 grammas de um soluto aquoso a 1 0/0 de azul de

methylena juntam se 10^{cc} de soluto de soda $\frac{N}{10}$ e ferve-se o todo durante 15 a 30 minutos.

Neutralisa-se então a mistura com 10^{cc} de acido sulfarico $\frac{N}{10}$.

A'parte faz-se uma solução aquosa de eosina a 1 por mil; e só no momento de nos querermos servir do corante se misturam as duas soluções na proporção de 1 parte da de azul de methylena para 10 da de eosina.

Technica:

- I. — Corar durante. 15 a 30 minutos
- II. — Lavar com um jacto d'agua.
- III. — Lavar com alcool absoluto.
- IV. — Lavar de novo em alcool absoluto $\frac{1}{2}$ minuto
- V. — Lavar com Xylol.
- VI. — Montar em Balsamo do Canadá-Xylol.

4.º — Thionina

A Thionina em soluto saturado no alcool a 50º e o azul de Toluidina em soluto aquoso a 1 ou 2 % dão resultados analogos aos do azul de Methylena; a technica a seguir tambem em nada differe da d'este córante.

5.º — Safranina

A safranina póde usar-se com todos os processos de fixação, inclusivé o Flemming.

Empregamol-a quer em soluto aquoso a 1 %.

quer dissolvida na agua de anilina na proporção de 2 ‰.

Esta ultima solução é a que deve sêr usada de preferencia.

Technica:

- | | |
|--|------------|
| I. — Córar com safranina | 1/2 minuto |
| II. — Lavar com agua. | |
| III. — Descórar rapidamente com alcool levemente chlorhydrico. | |
| IV. — Lavar de novo com agua. | |
| V. — Alcool a 66° | 1/2 minuto |
| VI. — Alcool a 90° | » » |
| VII. — Alcool absoluto. | » » |
| VIII. — Xylol | 1 » |
| IX. — Montar em Balsamó do Canadá-Xylol. | |

6.º — Violeta de Genciana

Este córante foi sempre empregado em solutos aquosos muito diluidos (4 ou 5 gottas de soluto alcoolico saturado em 50 grammas d'agua distillada) que actuaram durante 5 a 10 minutos. Fizemos quasi sempre, como melhores, colorações regressivas, isto é deixamos córar em excesso para depois differenciar pelo acido acetico muito diluido.

Córante basico, como o azul de methylena e de toluidina, o violeta de genciana dá resultados muito semelhantes aos de estes dois córantes.

7.º — Triacido d'Ehrlich

O Triacido é um córante neutro em cuja composição entram, o verde de methyla, a fuchsina acida e o orange - G.

Preparação do córante

Misturam-se:

Orange G. (sol. aq. sat.)	12	partes
Fuchsina acida (sol. aq. sat.)	6	»

e junta-se

Agua distillada	15	»
Alcool absoluto	15	»

Vasculleja-se e junta-se

Verde de methyla (sol. aq. sat.)	12,5	»
--	------	---

Vasculleja-se e junta-se ainda

Alcool absoluto	10	»
Glycerina	10	»

Este córante usa se sem filtrar, mas a sua preparação deve ser feita rigorosamente como deixamos indicado para evitar a formação de precipitados.

Tal como está preparado o córante deve actuar durante 2 a 5 minutos passados os quaes

se lava rapidamente nos alcooes e se monta em Balsamo. Diluido em agua ou glycerina na proporção de 10 % póde actuar mesmo 24 horas sem inconveniente mas a montagem tambem tem de ser rapida por que o triacido deixa-se descórar muito facilmente pelos alcooes. A montagem em levulose está indicada para as preparações córadas pelo triaciado d'Ehrlich que se não deve usar com as preparações fixas pelo Flemming.

8.º — Hematoxylina ferrosa

Denomina-se assim a hematoxylina que tem por mordente o chloreto ou o alumen ferrico, dos quaes nos podemos servir indifferentemente.

A hematoxylina ferrosa é um magnifico córante de resultados sempre seguros, contanto que haja os maiores cuidados na execução da coloração, podendo dar differenciações muito delicadas e da maior nitidez.

Technica :

- | | |
|---|----------|
| I. — Alumen ferrico (Solutu aquoso a 1 %). | 1 hora |
| II. — Lavar demoradamente em agua. | |
| III. — Córar com hematoxylina (Solutu aquoso recente a $\frac{1}{2}$ %) | 24 horas |
| IV. — Descórar no mordente até o protoplasma ficar quasi incolor. | |

- V. — Lavar em agua.
 VI. — Alcool a 66°. $\frac{1}{2}$ minuto
 VII. — Alcool a 90°. » »
 VIII. — Alcool absoluto » »
 IX. — Xylol 1 »
 X. — Montar em Balsamo do Canadá-Xylol.

9.º Hematoxylina — Eosina

Technica:

- I. — Córar com Hematoxylina de Böhmer
 (Solutio diluido) 10 minutos
 II. — Lavar em agua corrente. 24 horas
 III. — Córar com Eosina (Solutio a 1 $\frac{0}{0}$ no
 alcool a 66°) 4 ou 5 minutos
 IV. — Lavar em agua.
 V. — Alcool a 66° $\frac{1}{2}$ minuto
 VI. — Alcool a 90° » »
 VII. — Alcool absoluto » »
 VIII. — Xylol. 1 »
 IX. — Montar em Balsamo do Canadá-Xylol.

A hematoxylina-eosina póde usar-se com todos os fixadores menos com o Flemming.

10.º — Hematoxylina-Bordeaux R.

Technica:

- I. — Córar com hematoxylina ferrosa (Vid. 8º).
 II. — Lavar.
 III. — Córar com Bordeaux R. (Solutio aquoso a
 $\frac{1}{2}$ $\frac{0}{0}$ levemente acidulado por acido acetico 1-2 minutos
 IV. — Lavar rapidamente em agua.
 V. — Alcool a 66° $\frac{1}{2}$ minuto
 VI. — Alcool a 90° » »
 VII. — Alcool absoluto. » »
 VIII. — Xylol 1 »
 IX. — Montagem em Balsamo do Canadá-Xylol.

11.º — Bordeaux R. — Hematoxylina

Apezar de n'esta coloração entrarem os mesmos elementos que na anterior, os resultados são completamente outros.

Este córante como adeante veremos é o unico que se póde, com justiça, chamar córante específico das inclusões.

Technica:

- | | |
|---|---------------|
| I. — Córar com Bordeaux R. (form. cit.) . . . | 1 a 2 minutos |
| II. — Lavar rapidamente com agua. | |
| III. — Córar com Hematoxylina de Böhmer . . . | 10 minutos |
| IV. — Lavar em agua corrente. | |
| V. — Alcool a 66°. | 1/2 minuto |
| VI. — Alcool a 90°. | » » |
| VII. — Alcool absoluto | 1 » |
| VIII. — Xylol. | |
| IX. — Montagem em Balsamo do Canadá-Xylol. | |

12.º — Safranina — Violeta de Genciana — Orange G

(Flemming)

Este processo de coloração é especialmente usado para as preparações fixas pelo Flemming.

Os cortes, depois de prompta a collagem com albumina e agua, foram mergulhados em agua oxygenada,

- | | |
|--------------------------------|------------|
| Agua oxygenada a 3 ‰ | 1 parte |
| Agua distillada | 10 partes, |

durante 24 horas para fazer desaparecer a côr negra devida ao acido osmico. Seguidamente foram lavadas demoradamente para se proceder então á coloração.

Eis a technica:

- 1.º Córar com safranina durante 24 horas.
(Formula: Safranina 1 gramma
 Agua distillada 100 grammas
 Oleo d'anilna. 1 gramma
 Agite e filtre só ao fim de 24 horas).
- 2.º Lavar com agua.
- 3.º Descórar com alcool chlorhydrico.
(Alcool a 70° ao qual se juntaram algumas gottas de alcool chlorhydrico) e interromper a descórção antes de o protoplasma ficar completamente incolor.
- 4.º Lavar novamente com agua.
- 5.º Córar com violeta de genciana (soluta aquoso a $\frac{1}{2}$ por cento) durante $\frac{1}{2}$ a 1 hora.
- 6.º Lavar em alcool a 60° — $\frac{1}{2}$ minuto,
- 7.º Idem em alcool a 90° — $\frac{1}{2}$ minuto.
- 8.º Idem alcool absoluto — $\frac{1}{2}$ minuto.
- 9.º Córar com Orange G. (Soluta saturado no Oleo de Cravo) (1) durante 5 a 10 minutos.
- 10.º Lavar com Xylol.
- 11.º Montar em Balsamo do Canadá-Xylol.

A technica da coloração das inclusões do cancro, por vezes tão trabalhosa, tem a maior impor-

(1) O oleo de cravo completa ao mesmo tempo a descórção, não havendo perigo em a levar muito longe, porque elle é incapaz de fazer uma descórção completa.

tancia em relação ao resultado final das preparações.

O modo de preparar os córantes e mesmo a qualidade das substancias empregadas pódem influir nos resultados, de uma maneira decisiva.

E' portanto conveniente empregar substancias de maxima pureza e de procedencia segura e ter o maior cuidado na preparação dos córantes.

Pelo que diz respeito ao tempo que as preparações devem permanecer mergulhadas nos córantes é quasi impossivel precisal-o com exactidão, sendo muito util não nos regularmos pelo relógio, mas sim por exames repetidos ao microscopico com pequenas ampliações, o que nos fornece indicações mais exactas.

IX.) *Montagem*

A montagem em Balsamo do Canadá Xylol foi a que mais commummente usámos, deixando só para casos especiaes a montagem em levulose que tem as mesmas vantagens que o Balsamo e que não necessita da intervenção do alcool que prejudica certas colorações.

A levulose para este fim prepara-se dissol-

vendo um certo volume d'esta substancia em um volume d'agua, metade menor, e collocando a solução no thermostato durante 24 a 48 horas.

As preparações montadas em levulose conservam-se indefinidamente.

X.) *Exame microscopico*

Para o exame microscopico utilisamo-nos sempre dosapparelhos Zeiss ou Leitz com ampliações variando entre 500 e 1000 diametros.

As grandes formas das inclusões parasitarias são perceptíveis com ampliações mais fracas mas os detalhes mais meudos só pela immersão se nos tornavam evidentes.

Em casos muito raros a ampliação attingiu 2000 diametros, mas nós estamos em dizer que tal ampliação é completamente desnecessaria.

B.) *Preparações frescas*

De todos os tumores sobre os quaes versaram os nossos estudos foram feitas preparações frescas quer do succo quer dos productos de raspagem.

Umas foram immediatamente examinadas e

outras precedendo fixação e coloração por processos que vamos descrever.

a) Exame directo

O exame directo versou sobre o succo ou os productos de raspagem simplesmente cobertos com a lamella ou então immersos em soro physiologico.

b) Fixação

O succo ou o producto de raspagem foram estendidos entre duas lamellas á maneira das preparações de sangue e seccos por agitação ao ar e a fixação fez-se por varios processos.

I. *Acido osmico.*

As preparações eram expostas, em camara fechada, aos vapores de uma solução aquosa concentrada de acido osmico. A fixação completava-se ao fim de 20 a 30 minutos.

II. *Alcool — Ether.*

A mistura em partes eguaes de alcool absoluto e ether sulfurico foi por vezes utilizada, como fixador, com bons resultados.

As preparações depois de seccas por agitação ao ar, eram levemente flamejadas n'um bico de Bunsen e fixas pela immersão n'aquella mistura durante 15 a 20 minutos.

III. *Calôr.*

As preparações fixas pelo calor raramente nos deram resultados regulares, a grande retracção dos tecidos impede quasi por completo determinar a morphologia dos differentes elementos.

IV. *Corantes fixadores.*

Certo numero de corantes que são ao mesmo tempo fixadores dispensam esta operação previa; n'este numero está o azul de methylena-eosina (formula de May e Grünewald). — Seccas por agitação ao ar as preparações eram immediatamente immer-sas no corante que se encarregava ao mesmo tempo da fixação.

c) *Coloração*

Qualquer dos processos de coloração descriptos para os córtex histologicos pôde sêr utilizado para as preparações frescas, tendo apenas a attender-se que estas se córam mais rapidamente que

1
aquelles. O azul de methylena quer só, quer associado a eosina debaixo das formulas de May-Grünwald e Romanowsky-Michaëlis deu-nos muito bons resultados e o mesmo aconteceu com a Hematoxylina ferrosa e o Bordeaux-Hematoxylina.

O exame dos córtes histologicos é em geral muito mais fecundo que o das preparações frescas, porque nos primeiros póde, com mais facilidade, observar-se as relações entre os elementos extranhos e os do organismo; nas preparações frescas, por mais cuidadas que sejam, estas relações estão muitas vezes alteradas visto que nós temos de exercer pressões mais ou menos fortes sobre o material colhido para assim o podermos reduzir a uma camada tenue e transparente. Não obstante, as preparações frescas são do maior proveito, e nós nunca devemos deixar de preceder as nossas investigações sobre córtes, de um exame directo, que nos põe immediatamente ao facto da parte do tumor onde mais parasitas existem.

CAPITULO II

MORPHOLOGIA

O estudo da fôrma dos elementos anormaes foi feito sobre preparações frescas do succo ou producto de raspagem bem como em córtes histológicos de grande numero de tumores do qual fazem parte os cancros descriptos nas nossas observações.

Não obstante sêr grande a variedade de fôrmas encontradas, é possível referil-as todas a um determinado numero de typos, vista a semelhança que existe entre algumas d'ellas.

Nós classifical-as-hemos em cinco grupos ou typos morphologicos.

1.^o

(Figs. 1 e 38 b.)

Fôrmas de tamanho variavel apresentando um nucleo central redondo cercado por uma zona re-

fringente, incolor, sem vestigios de estructura, de diametro inconstante e envolvida por uma membrana de um só contorno.

Estas fórmulas estão em geral alojadas no protoplasma cellular, mais raramente no nucleo e ainda muito menos vezes se encontram livres nos interstícios conjunctivos.

O seu numero em cada cellula é muito variavel; é raro encontrarem-se isoladas, sendo vulgares os grupos de 3 a 10, podendo tambem apparecer em muito maior numero.

Encontram-se em todos os cancros em maior ou menor abundancia, havendo muitas cellulas que as não conteem.

O seu tamanho é como dissemos muito variavel podendo ir do de um cocco até attingir 0,005 de millimetro e mesmo, ás vezes, mais.

Examinadas directamente, com fortes ampliações em preparações frescas sem coloração, apresentam-se, em geral, como pontos brilhantes nos quaes é impossivel distinguir estructura.

Coradas por azul de methylena apresentam um ponto central azul escuro ou violeta, com a zona refringente completamente incolor ou apenas le-

vemente azulada e envolvida por uma membrana bem azul. Coram se de maneira quasi analoga pelo azul de methylena-eosina debaixo das formulas de Romanowsky e May-Grünwald. A safranina tingemas de vermelho carregado com zona refringente ligeiramente rosea.

Pela hematoxylina ferrosa o nucleo é azul muito escuro, a zona exterior, incolor ou ligeiramente acinzentada, ao passo que a membrana exterior apparece tambem fortemente corada d'azul; resultados analogos dá o Bordeaux-hematoxylina mas nas preparações coradas por este processo as inclusões resaltam muito mais nitidamente porque só ellas se coram em azul, emquanto que todos os elementos da cellula hospedeiro incluindo o proprio nucleo ficam vermelhos.

A Hematoxylina-Eosina cora a zona refringente e a membrana exterior em vermelho sujo e o nucleo de azul carregado.

2.º

(Figs. 2, 4 e 38 b.)

Formas redondas ou ovaes, com nucleo central redondo ou arredondado, provido de um nu-

cleolo bem nitido, envolvido por uma zona refringente, incolor, sem estrutura, de diametro variavel e cercada por uma membrana bem perceptivel.

São intraprotoplasmaticas, nunca as tendo nós observado intra-nucleares ou livres.

Estas formas, que são muito mais raras que as precedentes, apparecem em geral isoladas, formando rarissimas vezes grupos nos quaes nunca podemos contar mais que tres elementos; podem ser vistas em todos os cancros.

As suas dimensões oscillam entre os mesmos numeros que as do primeiro grupo.

Em preparações frescas e sem coloração não deixam conhecer vestigios de estrutura, apenas nas formas maiores se pode notar, no meio de uma massa de grande refringencia, um ponto central ainda mais brilhante.

Comportam-se com os corantes como as formas do primeiro typo, mas o nucleolo apresenta-se, nas preparações coradas por azul de methylena e especialmente nos solutos velhos, como um corpusculo redondo, brilhante, de uma côr violeta avermelhado; a hematoxylina tinge-o em azul negro per-

mittindo uma diferenciação nitida entre o nucleolo e o nucleo, que é muito mais claro.

Em preparações córadas pelo processo de Flemming o protoplasma da cellula hospedeiro é fracamente violeta, o nucleo toma uma côr intermediaria á Safranina e ao Violeta de Genciana, os nucleolos são de um vermelho vivo e as inclusões apresentam-se, em todos os seus detalhes, córadas pela Safranina, em diferentes gradações do vermelho: nucleolo vermelho vivo e brilhante, nucleo mais claro, zona refringente apenas levemente rosea com a membrana exterior vermelha.

3.º

(Fig. 29)

Fórmias grandes, redondas, apresentando uma massa, refringente, incolor, homogenea, envolvida por uma membrana exterior bem desenhada e encerrando varios nucleos de fórmias irregulares, em numero variavel e dispostos sem symetria.

Apparecem sempre alojadas no protoplasma, podendo sêr observados em todos os cancros, apesar de muito pouco vulgares. Nunca as vimos em grupo.

O seu tamanho é inconstante, sendo em geral de grandes dimensões, que em alguns casos podem attingir as do nucleo cellular.

Ao exame directo apresentam-se como grandes massas, muito refringentes, nas quaes é impossivel perceber vestigios de estrutura.

Reagem aos diferentes córantes da mesma maneira que as fórmias do primeiro typo.

4.º

(Figs. 7, 8, 16, 17, 22 e 24)

Fórmias redondas ou ovaes, cercadas por uma capsula regularmente densa, encerrando grande quantidade de corpusculos redondos em numero muito variavel, bem juntos, dando ao todo o aspecto de um ninho recheiado. Estes corpusculos apresentam um nucleo central redondo ou arredondado, envolvido por uma zona incolor, refringente e homogenea analoga á das fórmias do primeiro grupo e envolvida tambem por uma membrana de contorno, bem nitida.

São fórmias intraprotoplasmaticas, em geral muito grandes (0,005 de millimetro e mais) chegando a repellir o nucleo da cellula hospedeiro

que muitas vezes toma a fôrma de um crescente; podem mesmo em casos mais raros encher a célula por completo.

Encontram-se em todos os cancros, sempre isoladas e as mais das vezes em numero restricto.

Ao exame directo apresentam-se debaixo da fôrma de massas muito refringentes nas quaes se não podem distinguir detalhes estruturales.

Córam-se pelos mesmos processos que todas as outras, deixando conhecer, em desenhos muito delicados, as mais finas estruturas; os corpusculos centraes comportam-se em relação a todas as substancias córantes como as fôrmas mais pequenas do primeiro typo.

5.º

(Figs. 5 e 38 c.)

Formas grandes, regularmente redondas, apresentando um grande numero de corpusculos esphéricos, do tamanho de coccus, muito junctos, formando uma massa redonda, envolvida por uma zona incolor, refringente na qual se não percebe estrutura e que é cercada por uma membrana, em geral, densa.

São formas muito raras, sempre intraprotoplasmáticas e cujas dimensões attingem em geral as do núcleo.

Ao exame directo apresentam-se como massas muito refringentes nas quaes as mais fortes ampliações não podem distinguir detalhes estruturales.

Nas preparações tractadas pelo azul de methylena, os corpusculos centraes destacam-se nitidamente corados em violeta avermelhado, a zona refringente é ligeiramente azulada, sendo azul carregado a côr da membrana exterior.

Nas colorações pela safranina ou hematoxylina-eosina não se lhes distinguem bem os detalhes estruturales que as preparações coradas com hematoxylina ou Bordeaux-hematoxylina evidenciam de uma maneira nitida, fazendo resaltar os corpusculos centraes corados em azul negro, sobre uma zona quasi incolor ou apenas levemente acinzentada, envolvida por uma membrana bem azul que separa o todo do protoplasma da cellula hospedeiro.

Em todos os cancros por nós observados se encontraram representantes de todos os typos acima descriptos, ainda que em muitos casos para os descobrir fosse necessario fazer grandissimo numero de cortes em serie.

Na sua maior parte são, como dissemos, formas intraprotoplasmaticas, apresentando-se o protoplasma cellular em geral mais condensado ao redor d'estas formações e podendo mesmo observar-se cellulas com verdadeiros vacuolos em virtude das inclusões se terem destacado, pelas successivas manipulações que a technica exige.

O apparecimento de maior numero de formações coincidiu em geral com a maior malignidade dos tumores, sendo em quasi todos os casos mais abundantes na periphéria.

As formas mais nitidamente regulares encontravam-se nas cellulas mais bem conservadas, apparecendo tambem nos focos muito degenerados, mas em muito peiores condições d'observação.

CAPITULO III

PROVAS DA NATUREZA PARASITARIA DAS INCLUSÕES

A simples inspecção das fórmulas que deixamos descriptas, cuja estrutura é tão caracteristica, basta já para as differenciar nitidamente dos elementos normaes da cellula hospedeiro e das figuras de reproducção cellular ou de inclusão phagocytaria.

A maneira como se comportam com as substancias córantes faz logo pôr de parte a hypothese de que se trate de degenerescencias ou infiltrações cellulares. Em todos os casos nós investigamos as differentes degenerescencias e sempre com resultado negativo.

Mas ha mais ; as relações observadas entre as inclusões e os elementos dos tecidos são de modo a não deixar duvida sobre a sua natureza parasitaria. Assim ; na maioria das cellulas, as inclusões, mesmo que em pequeno numero, repellem o proto-

plasma que se condensa então ao seu redor, encontrando-se mesmo, nos casos em que as formações são em grande numero, o nucleo repellido para a periphéria e apresentando algumas vezes a fórma de um crescente. Podem, além d'isso, observar se cellulas muito augmentadas de volume, quando é muito grande o numero de inclusões que ahi se desenvolvem.

Casos semelhantes se dão nos espaços conjunctivos em que as inclusões repellem os elementos dos tecidos.

E' frequente ainda encontrarem-se cellulas crivadas de numerosos vacuolos indicando que, ou espontaneamente ou devido ás successivas manipulações que a technica exige, as inclusões se destacaram deixando vazio o espaço onde, ao primeiro, se tinham desenvolvido.

Do que fica dito, conclue-se que as inclusões se não formam á custa dos elementos cellulares, mas que, vindas de fóra, ahi crescem e se reproduzem, comprimindo os elementos normaes e fazendo mesmo muitas vezes com que a cellula augmente de volume, tomando proporções extraordinarias.

A existencia de fórmas de reproducção e as

analogias entre as inclusões e alguns parasitas conhecidos, ás quaes nos referiremos em capitulo especial, são outras tantas provas da natureza parasitaria d'estas formações e por si sós sufficientes para a demonstrar.

*Analogias entre as inclusões do cancro
e as amibas*

Ha mais de vinte annos Woronin, em S. Petersburgo, estudou uma doença parasitaria das cruciferas denominada Hernia da Couve.

Esta doença caracteriza-se pelo desenvolvimento de tuberculos, como tumores, nas raizes da planta e por ter propriedades infecciosas, transmitindo se de um individuo a outro de uma maneira notoria. Woronin descobriu que a doença era produzida por um parasita intra-cellular que elle denominou *Plasmodiophora Brassicae* e opinou no fim do seu trabalho que a Hernia da Couve apresentava grande semelhança com os tumores malignos do homem.

O parasita que se apresenta em geral em grupos no seio das cellulas atacadas, apparece como um corpusculo pequeno, arredondado, com um

ponto central muito distincto; na coloração de Flemming este ponto central toma uma côr vermelho vivo e é envolvido por uma zona de diâmetro variavel inteiramente incolôr e sem estrutura; ao contrario d'isto o bordo é muito nitidamente desenhado. Estes corpusculos redondos apparecem em maior ou menor numero nas diversas cellulas da planta doente, crescem e espalham-se de maneira a enchel-as mais ou menos; junto d'elles ainda se encontra o nucleo da cellula vegetal bem distincto.

Estas investigações histologico-microscopicas foram completadas por Nawaschin em Kiew que n'ellas proseguiu com grande exito, tendo seguido o desenvolvimento do parasita na planta até á formação de esporos.

Estes grupos de esporos já Woronin os tinha visto transformar se em amibas lançando em agua a planta atacada.

O facto de as Plasmodias se transformarem em amibas é reconhecido por todos os botanicos, mas nós devemos notar que esta transformação não é facil de observar e parece mesmo que ninguem mais, depois de Woronin, cuja probidade scientifica

nunca foi posta em duvida, tornou a constatar este facto.

Os trabalhos de Nawaschin ainda vieram pôr mais em evidencia a semelhança entre a Hernia da Couve e os tumores malignos; e hoje que nós conhecemos as inclusões do cancro ainda é mais facil encontrar analogias entre as duas doenças.

1.º A primeira analogia que se encontra entre a Hernia da Couve e o cancro é que em ambos os casos existe um parasita intra-cellular.

2.º Os caracteres morphologicos dos parasitas, nos dois casos, são identicos.

3.º As cellulas da planta hypertrophiam-se e hyperplasiam-se em presença do parasita, exactamente como acontece no cancro.

4.º Tanto n'um como n'outro caso existem na vizinhança das cellulas que conteem parasitas, outras em que isto não acontece, mas que tambem estão muito hypertrophizadas, prova de que o augmento de volume das cellulas não é devido ao numero de parasitas que ella contem mas sim ao seu crescimento e reproducção instigados pelo parasita.

Doflein no seu trabalho « Die Protozoen als

Parasiten und Krankheitserreger » descreve as diversas formas de reproducção das amibas que nós achamos em extremo comparaveis a muitas das figuras descriptas, por nós, como parasitas do cancro, e como nos não foi possível observar directamente as formas de reproducção d'essas amibas, o nosso estudo comparativo foi feito com as figuras apresentadas por aquelle author.

As nossas figuras 39, 40, 41 e 42, representam cellulas vegetaes atacadas de Hernia da Couve, e foram copiadas das de Doflein.

A fig. 39 representa um corte da Hernia da Couve em que todas as cellulas encerram, em maior ou menor numero, parasitas bem identificaveis com os que se encontram nas nossas figuras 1, 2, 15, 19, 20, 34, etc. e que classificamos no nosso grupo 1.

Tambem é evidente a semelhança entre a forma incluída na cellula da fig. 41 e o nosso typo 4, representado nas fig. 7, 8, 16, 17, 22 e 24.

A fig. 42 reproducção exacta da 24 de Doflein representa uma cellula vegetal cheia de esporos de Plasmodiophora e é muito análoga ás fig. 5 e 38-c que representam inclusões analogas de cellulas carcinomatosas.

Esta comparação ainda que ligeiramente feita faz resaltar de um modo bem nitido as grandes analogias que existem entre as inclusões do cancro do homem e as da Hernia da Couve.

De resto, os trabalhos de Gaylord aos quaes nos referimos no capitulo das inoculações, vieram ainda mais estreitar a relação entre as duas doenças, ou até talvez mesmo identifiical-as.

Culturas

A prova cultural é com certeza um dos melhores argumentos a favor da natureza parasitaria das inclusões do cancro.

Mas infelizmente até hoje, que nós saibamos, ainda ninguem conseguiu cultivar Protozoides.

Mesmo de parasitas tão bem estudados como o da Malaria e as Coccideas nada se tem conseguido, ainda que por muitas vezes os mais habéis experimentadores o tenham tentado; comtudo ninguem nega o papel pathogenico d'estes Protozoarios.

Nós, por muitas vezes, em quasi todos os casos réferentes ás nossas observações e mesmo ainda

em alguns outros fizemos tentativas que resultaram sempre infructíferas.

Empregamos os mais variados meios de cultura, uns bem conhecidos nos laboratorios de bacteriologia como:

Caldo ordinario,

Caldo d'estomago de porco,

Agar e agar gelosado,

Liquidos d'hydrocele de pleurisia,

Leite, etc.

Outros especialmente destinados á cultura d'esta especie de parasitas como:

Caldo de mamma de vacca, ⁽¹⁾

Sangue tornado incoagulavel pela addição de extracto de sanguesugas,

Caldos vegetaes, etc.

A frio, e no thermostato a differentes temperaturas, mas sempre sem resultado.

Estes meios eram semeiados com fragmentos de diversas partes do tumor recolhidos asepticamente e immediatamente lançados nos meios de cultura.

(1) Feito como caldo ordinario.

Dos seis casos de cancro do seio que fazem parte das nossas observações foi ella sempre tentada, mas nós nem sequer conseguimos seguir o desenvolvimento no primeiro meio de cultura; o mesmo aconteceu com o liquido d'ascite do caso de carcinose abdominal.

Os protozoides teem uma vida tão curta, tão ephemera que quasi se não póde apreciar; geralmente não vivem mais do que alguns minutos ou quando muito poucas horas.

De resto nós sabemos bem as difficuldades com que tantas vezes deparam os bacteriologistas para cultivar microbios muito mais resistentes e para os quaes já se conhece, muitas vezes, o meio de cultura apropriado.

Ora as investigações sobre a etiologia parasitaria do cancro são, por assim dizer, d'hontem; a ninguem póde extranhar a falta de culturas e tambem se não póde apresentar esta falta como argumento de grande valor contra a theoria parasitaria que apesar de moderna já creou tão fundas raizes no meio medico do mundo inteiro.

SEGUNDA PARTE

CAPITULO I

PATHOGENIA

No decorrer do nosso trabalho chegamos á conclusão evidente de que no cancro se encontram elementos anormaes cuja natureza parasitaria não póde ser posta em duvida.

Mas a simples presença de parasitas nos tecidos cancerosos não implica necessariamente a ideia de que elles desempenhem um papel por mais insignificante que seja na pathogenia da doença.

Propomo-nos comtudo demonstrar n'este Capitulo, fundando-nos em factos d'observação e em dados experimentaes, que são os parasitas encontrados os agentes etiologicos do cancro.

Do estudo da morphologia e da biologia d'es-

tes elementos pódem já tirar-se argumentos em abono da acção pathogenica do parasita.

São varios os argumentos em favor d'esta ideia:

1.º Os parasitas encontram-se em todos os cancros. Todos aquelles que examinámos demonstraram em maior ou menor quantidade a presença de diversas formas parasitarias.

2.º Os parasitas descriptos são exclusivo do cancro. Effectivamente, nas investigações a que procedemos sobre tecidos pathologicos de natureza differente nunca podemos observar, ainda que seguindo a mesma technica, figuras que sequer se podessem comparar ás inclusões parasitarias do cancro.

3.º A maior malignidade e a evolução mais rapida dos cancros observados, coincidiu sempre com o apparecimento de maior numero de parasitas.

4.º A maneira porque os parasitas se comportam em relação á proliferação das cellulas do cancro, é sufficiente para nos levar á conclusão de que elles desempenham um papel activo na sua pathogenia.

Apparecem effectivamente muitas cellulas cancerosas com evidentes signaes de reproducção, em que abundam as inclusões parasitarias.

N'um dos casos de carcinoma da mamma era mesmo de notar a coincidencia entre a abundancia de parasitas e de figuras mitoticas.

5.º Finalmente um outro argumento se nos depara.

Sendo o cancro uma doença parasitaria e constatada como está a presença de parasitas nas cellulas cancerosas, não se encontrando outra causa capaz de explicar a producção da doença é-se, inevitavelmente levado a attribuir ás fórmulas encontradas o papel de agente pathogenico.

A serie d'argumentos que acabamos de apresentar é por si sufficiente para fazer prova do papel que os parasitas desempenham na pathogenia do cancro. Mas como outros nos podessem ser exigidos, nós procuramos obter provas d'inoculação e de cultura.

INOCULAÇÕES

I — *Inoculações accidentaes*

O numero dos factos d'observação da transmissão do cancro do homem para o homem, do homem para os animaes, dos animaes para o homem e entre os animaes é hoje tão grande que já ninguém pôde pôr em duvida a inoculabilidade do cancro.

Por muitas vezes tem sido constatado o contagio entre o doente e o medico.

Badd cita cinco cirurgiões dos hospitaes de cancerosos mortos de cancro, outros auctores relatam tambem factos que põem bem em evidencia esta propriedade do cancro.

São tambem frequentes os casos de contagio entre pessoas que fazem vida commum.

Zacutus Lusitanus relata um caso, em que uma mulher portadora d'um cancro do seio, o transmitiu aos seus tres filhos com quem dormia no mesmo leito.

Perylhe observou um cancro da lingua n'um homem que tinha sugado o seio canceroso da sua

mulher para a alliviar das cruciantes dôres que a torturavam.

O mesmo aconteceu a um medico que provou o succo de um cancro.

São além d'isso de constatação frequente os casos de contagio entre a mulher e o marido.

Do homem aos animaes ha tambem varios casos como aquelle de Badd em que um cão, que lambia o labio canceroso do dono, veio a morrer de um cancro da lingua.

Dos animaes ao homem ainda que menos frequentemente tem-se tambem constatado casos de contagio. Assim, uma mulher que tratava de um boi canceroso contrahiui um encephaloide n'um dedo.

O contagio entre animaes apesar de não muito vulgar tem sido já por varias vezes observado.

Jacob conseguiu constatal-o entre dois bois que viviam no mesmo estabulo.

Mas estes factos de contagio não estão fóra do alcance de todas as objecções; muito mais valor teem as inoculações experimentaes quando se pretende demonstrar a infecciosidade do cancro.

II — *Inoculações experimentaes*

As inoculações experimentaes entre individuos da especie humana não são hoje muito faceis de realisar. Comtudo é bem conhecido aquelle caso em que um medico enxertou no seio são de uma mulher, durante o somno chloroformico, um fragmento do outro seio, amputado momentos antes por motivo de carcinoma.

Habitualmente recorre-se á inoculação em animaes e d'estes os que mais se prestam são: o macaco, o cão, o coelho e a cobaya.

Desde muito tempo que nós vimos tentando a inoculação do cancro nos animaes de Laboratorio, mas até hoje, as nossas tentativas não teem sido coroadas d'exitto. Contam-se por algumas dezenas os casos dos quaes nós tentámos inoculações experimentaes.

Procedemos por varios processos; enxerto e injecção intravenosa ou peritoneal.

Enxertos, fizemol-os quer cutaneos quer, intra peritoneaes, com fragmentos de tumores recolhidos asepticamente e immediatamente inoculados.

As injecções intra peritoneaes foram sempre

feitas com succo ou producto de trituração, em almofariz, de fragmentos de tumor com pequenas porções de sôro physiologico. Um pouco mais complicada é a technica das injeccões intravenosas e se se não quizer vêr morrer o animal de experiençia durante a propria inoculação é preciso ter em vista certas regras.

Nós tomavamos fragmentos das differentes partes do tumor, recolhidos o mais asepticamente possível, trituravamol-os em almofariz esterilizado com quantidade variavel de sôro physiologico, coavamos o producto de trituração por um panno fino sahido do autoclave, e com o liquido obtido faziamos injeccões de cinco a dez centimetros cubicos na veia auricular posterior de coelhos. A principio para obtermos um animal inoculado sacrificámos uns poucos sem resultado. Das seringas de que nos serviamos era quasi sempre impossivel expurgar o ar por completo e os animaes vinham a morrer poucos segundos depois muito provavelmente de embolia gazosa.

Construido um aparelho especial para esta especie de inoculações, sem aquelles inconvenientes, nós vimos com surpresa que antes de obtermos um

animal inoculado nos morriam sempre uns tres ou quatro.

Suspeitando-se que a morte fosse devida a embolia gordurosa, introduzimos uma modificação na technica; o liquido inoculado era previamente levado ao centrifugador que fazia com que os globulos de gordura se accumulassem á superficie do liquido que nós aproveitavamos simplesmente nas camadas profundas.

Com esta technica aperfeiçoada fizemos grande numero de inoculações de tumores de reconhecida malignidade. Mas na maior parte dos casos o insuccesso foi completo. N'um coelho apenas, appareceram lesões clinicamente comparaveis a um neoplasma.

Passados tres mezes da inoculação notámos, ao examinar este animal, um nódulo semi-espherico, duro, da circumferencia de uma moeda de tostão, sub cutaneo e situado na região lombar um pouco á direita da columna vertebral.

O tumor cresceu progressivamente até attingir a circumferencia de uma moeda de cinco tostões na occasião em que foi extrahido, isto é passando um mez depois da sua constatação.

O tumor extrahido pezava quinze grammas, era capsulado, ellipsoidal, bosselado, renitente e tinha uma côr amarellada. Ao corte era molle, amarello, tendo o aspecto do queijo da Serra, era pouco vascularisado, homogeneo, e não apresentava fôcos hemorrhagicos nem caseiosos. O aspecto macroscopico do tumor fez pôr de parte a ideia de um abscesso mas o exame histologico não nos pôde fornecer indicações seguras sobre a natureza da lesão, tal era o estado de degenerescencia em que as células se apresentavam.

Mas este animal não foi sacrificado, o tumor foi extrahido cirurgicamente e a ferida operatoria foi cicatrizando muito lentamente.

Passados seis mezes resolvemo-nos a fazer a autopsia ao coelho.

O tumor lombar tinha-se reproduzido. Era formado de duas porções; uma sub-cutanea, tendo a mesma séde que o tumor primitivo, emittia prolongamentos atravez das massas musculares que se iam expandir na outra porção que era intra-abdominal e tinha o tamanho de uma laranja.

Fluctuava na cavidade abdominal á maneira de uma viscera, capsulava o rim direito do qual

conservava bem nitida a impressão, era livre por todos os lados, menos por aquelle em que se continuava com a porção extra-abdominal. O seu aspecto era o da substancia cerebral, extraordinariamente vascularizado, era capsulado, irregular, multilobulado, duro em alguns pontos mas mais molle em outros. Ao córte era molle, homogeneo, sem focos, muito vascularizado e tinha o aspecto de uma massa cremosa. Esta producção clinicamente diagnosticada de carcinoma não mostrou ao exame histologico uma unica cellula sobre a qual fosse possivel firmar o diagnostico, tal era o estado de degenerescencia em que se encontravam todos os seus elementos.

Este caso que a principio tantas esperanças nos deu, quasi que não constituiu, finalmente, mais do que um caso negativo.

Do seu exame foi impossivel tirar a mais leve conclusão.

Mas não tem acontecido assim a todos os experimentadores. De todos elles, aquelle que nos merece mais confiança é o Prof. Gaylord, director do Instituto Pathologico, de Buffalo, cujas prepara-

ções de varios casos de inoculação de cancos em cães, nós e muitos histologistas tivemos occasião de observar. Não obstante o experimentador se encontrar n'um meio muito adverso á inoculabilidade do cancro do homem aos animaes, os seus trabalhos, detidamente examinados, não soffreram a menor contestação.

Não ficam por aqui os resultados positivos das inoculações de tumores do homem nos animaes, que já datam do tempo de Langenbeck. Follin, Lebert, Goujon, Firket e ainda muitos outros relatam os resultados positivos de inoculações que attendendo á probidade scientifica dos seus auctores são dignos de todo o credito.

Mais faceis de obter são as inoculações de animal para animal. Hannau, Morau e outros conseguiram, por varias vezes, inocular cancro de rato para rato e de cão para cão. Mas nós não fomos tão felizes que podessemos obter animaes cancerosos para podermos repetir as experiencias d'estes auctores. Limitamo nos, portanto, a relatar estes factos que, de resto, já são de todos sobejamente conhecidos.

Experiencias de Gaylord

O Prof. Gaylord, impressionado pela semelhança entre a Hernia da Couve, de que já fallamos, e o carcinoma do homem, tentou, com resultado, a inoculação d'aquella doença em diversos animaes de laboratorio. Elle relatou n'uma conferencia feita em fins do anno passado os resultados das suas experiencias e demonstrou, com preparações á vista e que nós tivemos occasião de observar, que era possivel, enxertando fragmentos da Hernia da Couve no peritoneo de cães, obter lesões perfeitamente identificaveis com o carcinoma.

Os Profs. von Leyden e von Hanseman que observaram os córtex do tumor do cão não impugnaram o resultado das observações de Gaylord.

Na mesma conferencia que se realisou no Comité für Krebsforschung, o Sanitätsrath Dr. Robert Behla, a titulo de discussão, fez notar a coincidência de o cancro ser endemico em uma parte da cidade de Luckau (Allemanha) onde havia muito espalhada a Hernia da Couve, ao passo que o não era na parte da cidade em que a Hernia não existia. A isto mesmo já o Dr. Behla se tinha referido em

1898, n'um artigo da «Centralblatt für Bacteriologie».

Nós que fizemos varias preparações histológicas de Hernia da Couve, com o fim de estudar as analogias entre esta doença e o cancro do homem, nunca a podemos obter em estado de ser inoculada.

Mas a probidade scientifica de Gaylord, de todo o modo insuspeita, torna as suas observações dignas do maior credito; de resto as suas preparações foram examinadas por homens de competencia inexcedivel, alguns dos quaes, como von Hanseman, eram dos maiores adversarios da origem parasitaria do cancro.

CAPITULO II

HISTOGENESE

I

De tudo o que deixamos dito, nos capitulos anteriores, conclue-se que o cancro é devido á presença e pollulação, nos tecidos, de um parasita da ordem das amibas.

Resta-nos agora determinar qual é o elemento neoplasico inicial, encarado independentemente da causa da sua apparição e estudar a maneira como elle se comporta em relação aos tecidos que o cercam.

A lucta entre a theoria cellular e a dos blastêmas veio trazer uma grande importancia a este estudo.

A theoria dos blastêmas explicava todas as neoformações pela apparição de granulações, de nucleos, e até de cellulas no seio de um liquido especial. Cada tecido tinha por origem um blastê-

ma e d'este modo se supprimiam todas as difficuldades.

A esta theoria, da qual não restam vestigios senão na historia dos tumores, mas que serviu de base á Escóla de Broca, depois de tão bem desenvolvida por Schwan, veio oppôr-se a theoria cellular.

Em 1861 Wirchow publicou a *Pathologia cellular* baseada sobre o estudo physiologico e pathologico dos tecidos e enunciou pela primeira vez a doutrina que tem o seu nome.

Esta doutrina póde resumir-se em poucas palavras: Assim como o reino inorganico tem por ultima expressão a mollecula, o reino organico apresenta em ultima analyse um elemento particular, possuindo sempre caractéres communs; é a cellula, caracterisada pelo nucleo e pelo nucleolo, pelo conteúdo e pela membrana de involucro.

A cellula nasce da cellula.

Não ha geração expontanea.

« *Omnis cellula e cellulâ* ».

Todos os organismos multicellulares pro-
veem da multiplicação da cellula unica que o constitua a principio; não se fórma nos tecidos ne-

nhuma cellula que não provenha da divisão, da gemação, n'uma palavra da scisão de uma cellula preexistente.

A theoria cellular que é hoje por todos acciete, póde actualmente traduzir-se n'uma phrase que dando-lhe talvez mais um pouco de latitude, não prejudica a ideia inicial tão bem demonstrada pelo seu fundador.

Nihil sine cellula.

Todos os problemas que se levantam actualmente sobre a histogenese dos tumores são baseados n'esta theoria.

Quaes são as cellulas que dão origem a tumores?

Derivam todos os tumores de um elemento commum ou de cellulas do mesmo typo que aquellas que o constituem?

Obedecem os tumores á lei da especeficidade cellular, que quer que toda a cellula do organismo adulto seja incapaz de se transformar em uma cellula differente do grupo ao qual pertence, ou podem todas as cellulas de uma região, sem distincção, tomar um character unico e especial?

Nas differentes maneiras de responder a estas

perguntas tiveram origem as diversas theorias histogenicas ás quaes nos vamos referir.

Johannis Müller, na Allemanha, escreveu, em 1838, um famoso trabalho sobre tumores, o primeiro no seu genero, no qual estabeleceu a lei que tem o seu nome: O tecido de todo o neoplasma tem o seu typo n'um tecido do organismo embryonario ou adulto.

Virchow que acceitava esta lei não admittia que os tecidos neoplasticos derivassem sempre dos seus homologos e considerava que todos os tumores tinham origem nas cellulas do tecido conjunctivo que, depois de terem retomado a sua forma embryonaria, seriam capazes de se organizar nas differentes especies de tecidos.

Cohnheim concedia as mesmas propriedades aos globulos brancos do sangue. A estas theorias, que tendem hoje a ser abandonadas, vieram oppôr-se varios argumentos.

Thiersch e Waldeyer demonstraram que os carcinomas não proveem do tecido conjunctivo mas sim dos epithelios e que só o epithelio pode dar origem a tumores epitheliaes.

Foi este o primeiro passo para a doutrina da

especificidade cellular á qual Bard deu todo o des-
envolvimento.

Este auctor accrescentou o celebre axioma de Virchow, fazendo-lhe perder talvez um pouco do seu rigor para « *Omnis cellula e cellula ejusdem naturae* ».

Bard não se limita a admittir que todo o epithelioma provenha do epithelio, vae mais além, affirmando ainda que toda a cellula epithelial nasce d'uma cellula do mesmo typo, nunca se podendo observar a transformação d'um typo em outro.

Para fundamentar a sua opinião Bard estabelece a theoria da arvore histogenetica segundo a qual existem dois modos de proliferação cellular a multiplicação e o desdobramento. O primeiro pode applicar-se a todas as cellulas e tem a propriedade de dar origem a cellulas semelhantes entre si e semelhantes á cellula mãe; o segundo só se pode produzir sobre cellulas complexas.

As cellulas geradoras são de todas as mais complexas, encerrando os elementos de todos os tecidos. As cellulas fetaes são cellulas complexas transitorias nascidas dos desdobramentos do ovulo fecundado, sendo de cada vez menos complexas á

medida que se vão affastando do ovulo que lhes deu origem. As cellulas do organismo são cellulas simples, ultimo termo dos desdobramentos das cellulas do embrião, e são susceptiveis de desdobramento sem comtudo se poderem multiplicar senão no seu typo especifico.

Estas dichotomisações successivas é que fizeram dar á doutrina o nome de arvore histogenetica.

Henneguy demonstrou, nas suas lições sobre a cellula, como esta theoria estava em desaccordo com os factos d'observação tirados do reino animal e do reino vegetal.

Não se pode negar, que na maior parte dos casos, a observação attenta dos tumores epitheliaes, em via de crescimento, não demonstra a unidade da sua constituição.

Entre os partidarios da theoria conjunctiva e os da especificidade cellular, ha um terceiro grupo de anatomo pathologistas que admittem uma theoria ecletica. Para elles os elementos epitheliaes concorrem para formar tumores epitheliaes, mas as cellulas conjunctivas podem tambem participar do

processo em larga escala e algumas vezes quasi completamente.

Rindfleisch e Chambard são com certeza os partidarios d'esta theoria que mais authoridade teem.

Chambard, estudando um cancro da pelle, desenvolvido n'um molluscum congenito, chega á conclusão de que o crescimento d'este cancro se fez por transformação de cellulas conjunctivas da visinhança e que o tumor só podia ter tido origem n'este tecido.

Para Recklinghausen, Kœster e outros, grande numero de tumores proviriam da transformação do endothelio dos vasos sanguineos e lymphaticos.

Assim o carcinoma primitivo dos ganglios lymphaticos teria origem no endothelio vascular e seria um endothelioma.

II

Todo o tumor primitivo resulta da proliferação de um tecido normal.

Qual é o modo como esta proliferação se exerce? O processo inicia-se em uma unica cellula;

ou attinge varias cellulas simultanea e successivamente?

A primeira d'estas hypotheses, sustentada por Bard não se conforma com os factos de observação; ainda que o processo attinja primitivamente uma unica cellula, é um facto que elle se pode transmittir ás cellulas da visinhança. A proliferação, por transformação, dos elementos são em elementos cancerosos é o melhor argumento contra esta doutrina de Bard.

Se um tumor derivasse exclusivamente da proliferação de uma só cellula, os elementos vizinhos d'esta cellula mãe do cancro, deveriam atrophiar-se, destruir-se, por dissociação ou pela compressão resultante da multiplicação da cellula inicial.

Mas isto não acontece em todos os casos e nós podemos mesmo observar os termos de transição entre a cellula normal e a cellula neoplasica; de resto a propagação por continuidade vem esclarecer este assumpto sobre maneira.

Todo o tumor em via de crescimento apresenta uma proliferação cellular, cuja intensidade está na razão directa da rapidez da sua evolução. O tumor cresce pois sobretudo pelo augmento de

volume da sua propria massa, mas isto é um phenomeno secundario que deve ser sempre precedido d'um outro phenomeno anterior, preparatorio, que vem a ser a transformação d'um dos seus elementos normaes em elemento neoplasico.

Muitas vezes acontece que este processo inicial de transformação, localizado em um departamento cellular extremamente restricto, se suspende muito cêdo não tornando a reaparecer; mas pôde tambem succeder que o tumor cresça por proliferação cellular e por transformação contínua.

A maior parte dos auctores concordam em reconhecer a realidade do crescimento dos tumores por transformação de visinhança. Este modo de propagação se não é o mais frequente é pelo menos o que se observa mais facilmente.

Nos tumores que soffrem este modo de proliferação, o elemento conjunctivo soffre egualmente uma hyperplasia, da qual resulta a proliferação do stroma; hyperplasia que será tanto mais activa quanto o crescimento epithelial fôr mais rapido.

Outro modo de crescimento consiste na proliferação exclusiva das cellulas proprias do neoplas-

ma, infiltrando-se nos tecidos visinhos e destruindo-os por atrophia.

Waldeyer estudou ainda um terceiro modo de crescimento. Nos limites do tecido epithelial neoplasico, vê-se accumularem-se, em maior ou menor numero, cellulas migradoras facilmente reconheciveis pelos seus nucleos multiplos e pela sua pequenez relativa ao volume do seu corpo cellular. Os elementos que se reúnem assim no stroma conjunctivo peri-neoplasico englobam os elementos fixos do tecido conjunctivo e todos os elementos são da região. Ora elles exercem sobre estes elementos uma simples acção de atrophia, determinando-lhes a regressão e a desaparição; ora, pelo contrario, estes reagem mais ou menos e se tornam a sede de phenomenos hyperplasicos secundarios.

Waldeyer admitte então que as cellulas migradoras que tomaram o lugar dos elementos atrophados se organisem n'um tecido conjunctivo de cellulas fixas de nova formação, destinado a constituir d'uma parte a zona de invasão e d'outra parte o stroma do tumor.

III

Vamos agora vêr o que a observação nos ensina para podermos concluir qual das theorias é a verdadeira.

Nas cellulas que foram penetradas por um parasita, os materiaes nutritivos chegando em maior abundancia, o nucleo hypertrophia-se, o nucleolo torna-se bem apparente, o protoplasma tumefaz-se e carrega-se de succos e a cellula inteira distingue-se bem depressa das outras pela sua hypertrophia, conservando comtudo o seu typo primitivo.

Estes phenomenos de hypernutrição das cellulas revelam-se-nos por um exagero da sua actividade que tem em geral como consequencia a sua multiplicação.

Entrando na cellula, o parasita, a principio pequeno, distende-a pouco a pouco, comprime-lhe o protoplasma e o nucleo, e a cellula hypertrophiando-se, por sua vez, vae cumprir as suas vizinhas.

O parasita desenvolvendo-se em varias cellu-

las destróe-as, esgotando-as progressivamente na sua nutrição, mais tardiamente ainda por compressão e talvez mesmo segregando alguma toxina capaz de produzir a degeneração do elemento atacado.

A rapidez da acção do parasita sobre a cellula está em relação com o grau de resistencia d'esta, e com a virulencia do proprio parasita.

Destruída a cellula o parasita encontra-se em contacto com o tecido conjunctivo sobre o qual elle vae então exercer a sua acção. As cellulas parasitadas teem como ultimo termo a cellula epithelioide ou a cellula gigante, as cellulas da visinhança não parasitadas terminam no fibroblasta.

O carcinoma caracteriza-se pelos seus alveolos cheios de cellulas irregulares envolvidos por tecido conjunctivo de espessura muito variavel — (scirrho, carcinoma encephaloide).

D'onde provém a cellula carcinomatosa? Da cellula epithelial ou da cellula conjunctiva?

Por outras palavras: a cellula cancerosa tem uma origem unica ou multipla? Só um exame attento do carcinoma nos poderá fornecer alguma indicação.

O alveolo carcinomatoso é composto na sua parte peripherica, de cellulas irregulares, de volume variavel, com grande nucleo e envolvido por elementos conjunctivos de fórma e volume variaveis; as cellulas do centro são mais volumosas, mais arredondadas e apresentam menor numero de figuras de reproducção, o que nos leva a crêr que a proliferação se faz á peripheria do alveolo.

Estas cellulas estão em contacto directo com o tecido conjunctivo e um exame, com grande ampliação, faz-nos vêr que as cellulas conjunctivas novas, sempre em relações anastomoticas com a parede do alveolo, penetram até ao centro d'este.

Por um exame attento podem perceber-se todos os estados intermediarios entre a cellula conjunctiva nova, a cellula cancerosa peripherica parasitada e a cellula cancerosa hypertrophiada e livre.

O carcinoma tem uma origem epithelial, mas uma vez constituido, a cellula *chamada* epithelial dos novos alveolos do carcinoma é d'origem conjunctiva.

Generalisação e Metastases

A apparição de tumores metastaticos consecutivos a um tumor primitivo, ou por outros termos, a generalisação a todo o organismo d'um mesmo neoplasma tem recebido explicações muito diversas.

Uns, e esta é a theoria mais antiga, consideravam a generalisação como uma manifestação tardia da diathese cancerosa. Para outros, como os partidarios da theoria dos blastêmas invocou-se a transformação d'um elemento conjunctivo em virtude da diathese cancerosa.

Os partidarios da especificidade cellular admittem o transporte a distancia de uma cellula cancerosa, que fixando-se, como um enxerto, proliferaria dando origem ao tumor.

Como vehiculo da cellula foram admittidos a lymphá e o sangue.

Nós não queremos negar essa propriedade á cellula cancerosa, apenas lhe faremos uma restrição, que é o não admittir que ella prolifere de modo a dar origem a um tumor sem ter levado

em si o agente, isto é, o parasita; e a esta objecção nada têm que oppôr os partidarios da especificidade celular.

Tambem ninguem póde negar á lymphá e ao sangue o papel de vehiculo, demais a mais depois das experiencias de Nepveu que conseguiu encontrar cellulas cancerosas no sangue proveniente de uma picadura d'um dedo.

Mas nós não achamos indispensavel o transporte da cellula; para explicar as metastases é perfeitamente sufficiente admittir a migração do parasita.

Um argumento que se poderia logo apresentar contra esta ideia é a persistencia do typo canceroso primitivo no tumor secundario.

Ora a primeira objecção que nós temos a apresentar contra este argumento é que nem sempre a metastase apresenta o typo puro do tumor primitivo.

Em segundo logar nós não podemos affirmar que a cellula cancerosa seja uma cellula epithelial; quando muito será epitheliforme, e nós vamos demonstrar a veracidade da nossa affirmação, fazendo a comparação entre a cellula epithelial e a cellula cancerosa.

Critzman, diz: Morphologicamente a cellula normal caracteriza-se pela sua estructura relativamente complexa: ella compõe-se de uma substancia proteica, o protoplasma, envolvido pela membrana cellular e apresentando no centro o elemento reproductor, o nucleo.

A membrana cellular que não é senão uma condensação peripherica do protoplasma, falta muitas vezes.

O protoplasma é uma substancia proteica, uniforme, a cargo de quem estão as funcções de nutrição e respiração cellular.

No desempenho das suas funcções o protoplasma conserva-se sempre immutavel só se podendo perceber modificações nas suas granulações, e, segundo Hertwig, o protoplasma seria uma substancia permanente, ao passo que as substancias que elle engloba são materiaes de consumpção.

O protoplasma é constituido por uma serie de granulos distinctos das granulações de que acima fallamos, reunidos por uma substancia amorpha, a substancia intergranular.

O granulo que é a parte essencial e viva do protoplasma representa a unidade morphologica de

toda a materia organisada, é a elle que devem referir-se todas as considerações biologicas.

Quanto ás granulações protoplasmaticas d'outra natureza, ellas formam na cellula uma rêde cujas malhas contêm uma substancia fundamental amorpha e homogenea.

O nucleo apparece o mais das vezes sob a forma de uma vesicula clara, cercada de uma membrana cuticular, a membrana nuclear e é constituido por duas substancias; a nucleina ou chromatina, que retem energicamente certas materias corantes, sobretudo no momento da reproducção cellular e a paranucleina, substancia proteica que não reage aos corantes acidos.

No seio do protoplasma vê-se muitas vezes ao lado do nucleo um corpusculo, que desempenha um importante papel na divisão cellular; é o corpusculo polar que constitue geralmente na cellula um centro para o qual estão orientadas as partes constitutivas mais diversas da cellula (Hertwig); mas quando o nucleo está em repouso este corpusculo confunde-se com elle.

A cellula multiplica-se por divisão: directa quando, primeiro o nucleo e depois a cellula se di-

videm em duas partes sensivelmente eguaes; quando a rede nuclear começa por agrupar os seus filamentos n'um sentido determinado por leis precisas a divisão ou cytodierese chama-se indirecta ou mitose e toma o nome de karyokinese. Esta forma de reproducção cellular não realisa senão dois nucleos; a presença de tres ou mais na mesma cellula é quasi sempre pathologica.

Fabre-Domergue demonstrou que nos epithelios de revestimento assim como nos epithelios glandulares o eixo de divisão cellular é, quasi sempre, perpendicular á camada basilar e o plano de divisão sempre paralelo a esta camada.

Morphologicamente a cellula cancerosa distingue-se bem da cellula normal.

O protoplasma da cellula cancerosa é fortemente granuloso e o seu nucleo, nucleolado em todos os casos, distingue-se pelo seu volume e pelo seu contorno, mais accusados na cellula epithelial normal.

Como se sabe já, a cellula cancerosa digere os leucocytyos com muito mais energia que a cellula epithelial normal e Klebs quiz vêr n'este phenomeno uma especie de fecundação da cellula cancerosa.

A reproducção predominante é por divisão indirecta e as cellulas cancerosas apresentam formas de reproducção que são por assim dizer seu exclusivo, podendo algumas cellulas apresentar figuras de divisão por estrangulamento.

Nas cellulas cancerosas dá-se quasi sempre uma karyokinese asymetrica o que não acontece nas cellulas normaes. A divisão asymetrica do nucleo implica uma modificação do character cellular normal e sustenta uma alteração pathologica na energia e na direcção do crescimento dos elementos cellulares (Critzman).

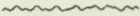
De resto a maneira como a cellula cancerosa se comporta com as materias córantes seria já sufficiente para estabelecer uma differença profunda com a cellula epithelial normal.

D'esta confrontação resaltam nitidamente as differenças entre cellula cancerosa e cellula epithelial, e nós não nos affastamos da verdade dizendo que a cellula cancerosa não é uma cellula epithelial mas uma cellula epitheliforme.

De resto nós já vimos que os elementos conjunctivos se podem transformar a ponto de se identificarem com as cellulas cancerosas.

Deve, pois, admittir-se que as metastases são devidas ao transporte do parasita que, exercendo a sua acção sobre os elementos sobre os quaes se fixa, os ataca, imprimindo-lhes, no seu desenvolvimento, uma orientação, sui generis, quasi sempre em relação com o typo morphologico do tumor primitivo.

A migração cellular póde, pois, intervir como causa occasional na formação de metastases, servindo de meio de transporte ao parasita, mas não como causa effeciente, *sine qua non* se possam obter metastases e generalisações.



CONCLUSÕES

- 1.º O cancro apresenta inclusões cuja natureza parasitaria é incontestavel.
 - 2.º Os parasitas encontrados pertencem á classe das amibas.
 - 3.º Estes parasitas são o agente pathogenico do cancro.
-

Observações

Não é grande o numero de observações que apresentamos, mas o apparecimento constante de inclusões parasitarias, n'este mesmo pequeno numero, bastaria para nos levar á convicção de que ellas se podem encontrar em todos os casos, se não tivessemos ainda tido occasião de observar prepações de muitos outros cancos, tambem feitas por nós, mas das quaes apenas obtivemos blocos incluídos em paraffina e já promptos para serem cortados, em que investigámos sempre com resultado e em maior ou menor abundancia fórmas analogas áquellas que descrevemos como fazendo parte das nossas observações.

Estas comprehendem:

6 cancos de seio, recebidos directamente da
mão do operador,

- 2 cancro de estomago,
- 1 cancro do pulmão e
- 1 caso de carcinose abdominal, dos quaes aproveitamos as peças d'autopsia.

Em todos os casos foi feito o exame directo sobre o succo ou producto de raspagem sendo reservados tambem fragmentos para histologia fixos por differentes processos, dos quaes fizemos quasi sempre mais de cem córtes que foram sempre tratados por mais de um córante.

Da maioria dos tumores foram tentadas culturas e inoculações ás quaes fazemos referencias nos capitulos competentes.

OBSERVAÇÃO I

(Figs. 1 a 10)

A. C., trabalhador, succumbe de 55 annos aos estragos de um cancro d'estomago de symptomatologia evidente.

A' autopsia, feita poucas horas depois da morte, encontrou-se um tumor duro do tamanho de uma laranja que, implantando-se na região pylorica, se estendia pela face postero-superior do esto-

mago até ao meio da pequena curvatura, não ultrapassando, na face anterior, a pequena tuberosidade.

O tumor, que estava largamente ulcerado, era firme e compacto, cinzento-amarellado ao corte, apresentando nodulos caseificados mais amarellós.

Os ganglios da pequena curvatura, mais comprometidos que os hepaticos e esplenicos, estavam muito hypertrophiados, eram bosselados, irregulares e duros ao corte que mostrou uma superficie amarello-acinzentado em via de caseificação em alguns pontos.

Nos productos de raspagem do tumor pylorico e dos ganglios da pequena curvatura, corados pelo azul de methylena, encontra-se uma grande quantidade de fórmás intracellulares ao lado de algumas livres. A maior parte são bem redondas, de contornos nitidos muito azues, com uma zona refringente, quasi incolor, em cujo centro se via o nucleo azul-escuro, apresentando por vezes um nucleolo violeta-vermelhado.

Estas formas eram, em algumas cellulas, de tal abundancia que o protoplasma desaparecia quasi por completo ou mesmo não existia.

O exame dos cortes histologicos d'esta nos-

sa primeira observação, com certeza a melhor de todas, foi fecundissimo. — Effectivamente a riqueza e a diversidade das formas nada deixou a desejar e nós encontrámos n'esta observação representados todos os typos das inclusões parasitarias, alguns dos quaes, mesmo, não conseguimos tornar a vêr, tão raros elles são.

A figura 1 da nossa prancha representa uma cellula d'um ganglio da pequena curvatura de grande nucleo semi-lunar com varios nucleolos e que não apresenta signaes de divisão. Agrupadas em um diametro opposto ao nucleo encontram-se quatro formações, tres das quaes, um pouco maiores são quasi eguaes e teem como appenso uma outra de dimensões extremamente restrictas. — Em todos elles se distingue bem claramente a zona hyalina com o seu nucleo central e uma membrana d'envolucro bem desenhada.

A figura 2 apresenta uma forma já maior, em que o nucleo é provido de um corpusculo nucleolar. — Imagens analogas se encontram na figura 4.

Na figura 3 distingue-se uma forma ainda maior com zona hyalina mais estreita, de grande nucleo contendo multiplos nucleolos; o todo é en-

volvido por uma membrana nitida de um só contorno.

A figura 5 é muito interessante especialmente por apresentar uma forma que rariissimas vezes encontramos. — N'um extremo da cellula apparentemente pouco degenerada, vê-se uma forma que se compõe de um numero bastante grande de massas redondas, reunidas em grupo e envolvidas por uma zona refringente muito estreita contornada por uma membrana que a separa do plasma cellular.

Esta figura, que tem enormes semelhanças com a figura 42 que representa os esporos da *Plasmodiophora Brassicae* incluídos n'uma cellula vegetal, vem estabelecer o typo da transicção entre as differentes formas das inclusões parasitarias, e não foi até hoje descripta por nenhum auctor. Nas preparações coradas por hematoxylina ferrosa os esporos teem uma côr azul escuro, a zona refringente está levemente azulada ao passo que a membrana exterior, que é nitida, está tambem muito azul.

As figuras 6, 7 e 8 representam formas em que as inclusões estão reunidas em grande numero formando massas redondas que por vezes invadem a cellula por completo.

Na figura 9 vê-se uma forma de grande tamanho, nucleada, e o nucleo cellular está reduzido a poeira chromatica.

A figura 10 representa tambem uma fórma muito pouco vulgar de inclusão que vem a ser os parasitas intranucleares que são em tudo analogos ás fórmas livres e intraprotoplasmaticas.

Como se vê encontram-se n'esta observação representantes dos diversos typos de inclusão parasitaria.

OBSERVAÇÃO II

A. S., de 48 annos, costureira, é operada de um cancro do seio.

Tumor pequeno, duro, bosselado, adherente á pelle ao nivel do mammilllo que apresenta uma ulceração crateriforme por onde se escoava um liquido sanguinolento e fetido. — Ao corte era duro e renitente, esbranquiçado, com pouco succo e era formado em grande parte por um tecido fibroso que circumscrevia massas acinzentadas apresentando modulos amarellados dos quaes sahia por vezes uma massa caseiforme.

Os ganglios axillares correspondentes, extirpa-

dos na mesma occasião estavam hypertrophiados attingindo alguns d'elles o tamanho de uma pequena noz. — Eram bosselados, irregulares, friaveis; ao corte tinham uma côr branco acinzentado e aquelles em que o processo estava mais adeantado deixavam escorrer um liquido cremoso branco avermelhado.

Quer do tumor do seio quer dos ganglios foram feitas immediatamente preparações frescas para exame directo e ao mesmo tempo recolhidos fragmentos que foram fixos em alcool e em sublimado.

Ao exame directo encontram-se no tumor primitivo e nos secundarios grande quantidade de células livres, a maior parte das quaes, deixam vêr no seu interior, com uma forte illuminação, massas muito refringentes de tamanho variavel cujos detalhes mais meudos se não podem bem distinguir; em algumas de maiores dimensões percebe-se contudo uma parte de menor refringencia collocada no seu centro.

O numero d'estas massas é muito variavel, sendo contudo raras aquellas que conteem só uma.

O exame histologico, que veio confirmar o diagnostico clinico foi feito sobre preparações in-

cluidas em paraffina e córadas por azul de methylena, hematoxylina ferrosa e hematoxylina-Bordeaux.

Nas preparações do ganglio que foram as que melhor se prestaram a exame encontram-se varias formas de inclusão que nós reproduzimos na nossa prancha nas figuras de 11 a 15.

As cellulas de 11 a 13 teem um nucleo grande; bem formado com nucleolos e um esqueleto fibroso, com contornos nitidos e sem apresentar signaes de divisão nuclear ou de ruina.

Na figura 11 encontram-se reunidas tres formas que classificámos no nosso grupo 1 e que apresentam um contorno bem nitido, bem córado pelo azul de methylena, envolvendo uma zona hyalina quasi incolor no centro da qual está o nucleo que tambem tomou o azul.

Na figura 12 estão agrupadas junto ao nucleo, n'uma massa mais escura de parenchyma, formas de diversos tamanhos pertencendo á mesma classe que as precedentes. A figura 13 representa uma cellula contendo um só parasita, caso menos vulgar. Na figura 14 o parasita applicando-se contra o nucleo repelliou-o para a periphéria da cellula e fez com que elle se adelgaçasse no ponto de contacto.

A figura 15 tem varias cellulas de carcinoma com nucleos bem formados e algumas formas analogas ás anteriores.

OBSERVAÇÃO III

Um homem de 32 annos morre de um carcinoma do pulmão, diagnosticado em vida pela analyse dos escarros.

Pela autopsia verifica-se que o pulmão direito estava quasi completamente transformado em uma massa onkoplásica compacta, dura, branco-acinzentada. Ao córte era duro, sem succo e mostrava grande abundancia de tecido fibroso côr de madreperola.

No pulmão esquerdo o processo muito mais atrazado fazia-se representar por pequenos nodulos analogos aos do tumor do lado direito.

As preparações frescas não nos forneceram muitos elementos, mas os córtes histologicos, feitos sobre peças fixas pelo Flemming e pelo sublimado, mostraram grande riqueza de fórmás, o que está em harmonia com a evolução do processo que foi extremamente rapida.

A figura 16 da nossa prancha representa uma

cellula carcinomatosa muito grande contendo enorme quantidade de corpusculos redondos, eguaes, com um ponto central muito nitido, acamando-se uns contra os outros e constituindo um grupo, em forma de cacho, (typo 4.^o) que repelliu o nucleo para a peripheria; este tem a fórma de meia lua e apresenta um esqueleto fibroso com varios nucleolos.

A figura 17 é analogo a esta.

Na figura 18 vê-se tambem uma cellula grande contendo apenas 2 formações, uma maior deixando a custo perceber um nucleolo e outra de dimensões muito mais reduzidas.

OBSERVAÇÃO IV

E. S. de 43 annos, solteira, dona de casa, é operada de um carcinoma do seio.

Tumor duro, irregular, bosselado, achatado situado na parte externa do seio esquerdo e tendo approximadamente cinco centimetros de diametro. A evolução data de um anno. Ha engorgitamento ganglionar.

Ao córte tumor duro, fazendo cantar o escalpello, de superficie de secção branco acinzentado, com abundancia de tecido fibroso.

Do producto da raspagem fizemos preparações directas, nas quaes se notou abundancia de fórmias intracellulares; varios fragmentos do tumor destinados ao exame histologico foram fixos pelo Flemming e por Sublimado.

A figura 19 representa uma cellula extraordinariamente grande, contendo quatro fórmias de tamanho desigual. Nas maiores percebe-se um corpusculo nucleolar, córado em violeta avermelhado pelo azul de methylena.

A figura 20 é a imagem de uma cellula tam-bem de grandes dimensões na qual estão inclusas quatro formações junto ao nucleo que está bem conservado, o mesmo não acontece na figura 21 em que elle está reduzido a poeira chromatica. Esta cellula muito rica em fórmias parasitarias aca-madas umas contra as outras contem, algumas, não muitas, gottas de gordura e o protoplasma está mais condensado na visinhança das inclusões.

OBSERVAÇÃO V

A uma mulher de 52 annos é feita a amputação do seio direito em virtude de um carcinoma encephaloide de evolução extraordinariamente ra-

pida. Era um tumor grande com a forma de uma calotta espherica, molle, muito vascularizado, cuja superficie de secção apresentava côres variegadas com nodulós de caseificação e hemorrhagicos.

As preparações dos productos de raspagem fixas pelos vapores de acido osmico e pela mistura de alcool e ether, e coradas pelo azul de methylena mostraram grande quantidade de cellulas com inclusões parasitarias. A nossa fig. 22 representa uma cellula em que se encontra incluida uma grande forma do quarto typo. A fig. 23 representa uma cellula de um corte histologico fixo pelo Flemming e corado por Safranina — Violeta de genciana — Orange G, mostrando um grupo de tres formas, do primeiro typo, de dimensões irregulares.

OBSERVAÇÃO VI

Um homem de 38 annos morre de um cancro consecutivo a uma ulcera d'estomago. A autopsia mostra um tumor pylorico com metastases no figado e pancreas e grande numero de ganglios lymphaticos em que o processo se começa a manifestar.

Foi sobre estes especialmente que incidiu a nossa attenção.

Tomámos um ganglio hepatico duro, muito hypertrophiado, cinzento amarellado ao corte com nodulos muito amarellos e d'elle fizemos preparações frescas e córtes histologicos.

Como em preparações frescas fosse impossivel reconhecer as relações entre elementos cellulares e parasitarios, por serem mais abundantes as formas livres limitamo-nos a reproduzir as imagens de certas cellulas dos córtes histologicos fixos em sublimado e alcool. A figura 24 representa uma cellula de um cóрте fixo em alcool absoluto e corado por Hematoxylina-Bordeaux em que uma enorme quantidade de pequenas formas enche por completo uma cellula cujo nucleo ainda não apresenta signaes evidentes de degenerescencia.

Nas figuras 25, 26 e 27 os parasitas são pouco abundantes e todos os elementos cellulares estão, por assim dizer, normaes. São cellulas de um corte fixo em sublimado,

OBSERVAÇÃO VII

E. K., de 42 annos, é operada de um carcinoma do seio, cuja evolução data de seis mezes.

Era um tumor molle, do tamanho de uma tangerina e adherente á pelle que a esse nivel estava endurecida e violacea.

A superficie de secção muito vascularisada apresentava varios lobulos com nodulos hemorrhagicos ou de caseificação, e separados por feixes de tecido conjunctivo hyalino pouco abundante.

No exame directo do producto de raspagem encontra-se grande quantidade de fórmulas livres e incluídas nas cellulas carcinomatosas.

A figura 28 representa um córte histologico, fixo em formol e córado por Bordeaux-Hematoxylina, em que a differenciação entre elementos parasitarios e cellulares é das mais nitidas. Trata-se de pequenas fórmulas, sós ou agrupadas, bem córadas de azul, pela hematoxylina com uma zona hyalina apenas levemente azulada e uma membrana de contorno redonda e muito nitida que tomou a côr do nucleo.

OBSERVAÇÃO VIII

E. M. de 62 annos é operada de um cancro do seio de evolução lenta. O tumor apresenta dois grandes lobulos, um adherente á pelle que está largamente ulcerada ao nivel do mamillo, outro mais profundo deixando a pelle completamente livre. Ao córte é duro fazendo cantar o escalpello; a superficie de secção, branco acinzentado, muito abundante em tecido fibroso não dá succo se não por forte pressão e mesmo assim em pequena quantidade. Ao exame directo encontram-se varias fórmas pequenas e extremamente brilhantes. Os córtes histologicos de peças fixas por sublimado, alcool e formol forneceram nos preparações muito interessantes.

Encontram-se em maior abundancia as fórmas do primeiro e segundo grupo.

A figura 30 da nossa prancha representa fórmas de inclusão intranucleares muito difficeis de observar na maioria dos casos. A figura 31 representa uma cellula em que um parasita de grandes dimensões repelliu e comprimiu o nucleo cellular

que está reduzido á fórma de um crescente. Na fig. 32 que apresenta duas fórmas diversas do primeiro grupo, o nucleo está reduzido a poeira chromatica. A figura 33 é a imagem de uma cellula alongada apresentando n'uma das extremidades um grupo de tres parasitas, e mais perto do nucleo um outro isolado bem nitido.

OBSERVAÇÃO IX

Uma mulher de 60 annos foi operada ha dois mezes de um carcinoma da mamma esquerda, cuja cicatrização não chegou a completar-se. Feita nova intervenção pela amputação total do seio, recolhemos fragmentos do tumor que foram immediatamente lançados em sublimado, formol e no liquido de Flemming.

O exame dos córtes histologicos mostra grande abundancia de elementos parasitarios e nós reproduzimos na figura 34 o conteúdo de um alveolo, de um cóрте córado por hematoxylina ferrosa em que se encontram algumas cellulas com numero variavel de inclusões. N'uma d'ellas podémos contar 10 agrupadas junto ao nucleo, com um ponto central

azul-negro, uma zona hyalina levemente azulada e um contorno exterior bem azul separando-as do protoplasma cellular apenas azulado ligeiramente. Nenhuma das cellulas apresenta indicio de degenerescencia. Os nucleos bem conservados teem contornos regulares e apresentam um esqueleto fibroso com varios nucleolos.

OBSERVAÇÃO X

M. P., de 50 annos, costureira, natural do Porto, entra para a enfermaria de clinica cirurgica em 16 de novembro de 1901, por motivo d'ascite e edema dos membros inferiores bem como de dôres intensas que se lhe irradiavam por todo o ventre.

A doença data de 5 mezes e a manifestação das dôres, mais fortes no flanco e hypochondro direitos, coincidiu com o apparecimento da ascite. A palpação abdominal, impossivel sem o auxilio de uma paracentese que produziu cinco litros de um liquido fibrinoso, amarello citrino, fez notar junto á columna vertebral, do lado direito e ao nivel da 3.^a e 4.^a vertebrae lombares uma tumefacção

em forma de cunha com a base voltada para fóra que foi diagnosticada de tumor maligno considerado inoperavel.

A morte sobreveio passados poucos dias sem que se tivesse feito mais que umas injeccões de morphina e paracentheses diarias com o fim de attenuar o soffrimento á doente.

A autopsia realisada poucas horas depois da morte veio confirmar o diagnostico clinico e mostrou tractar-se de um carcinoma generalisado a todo o abdomen.

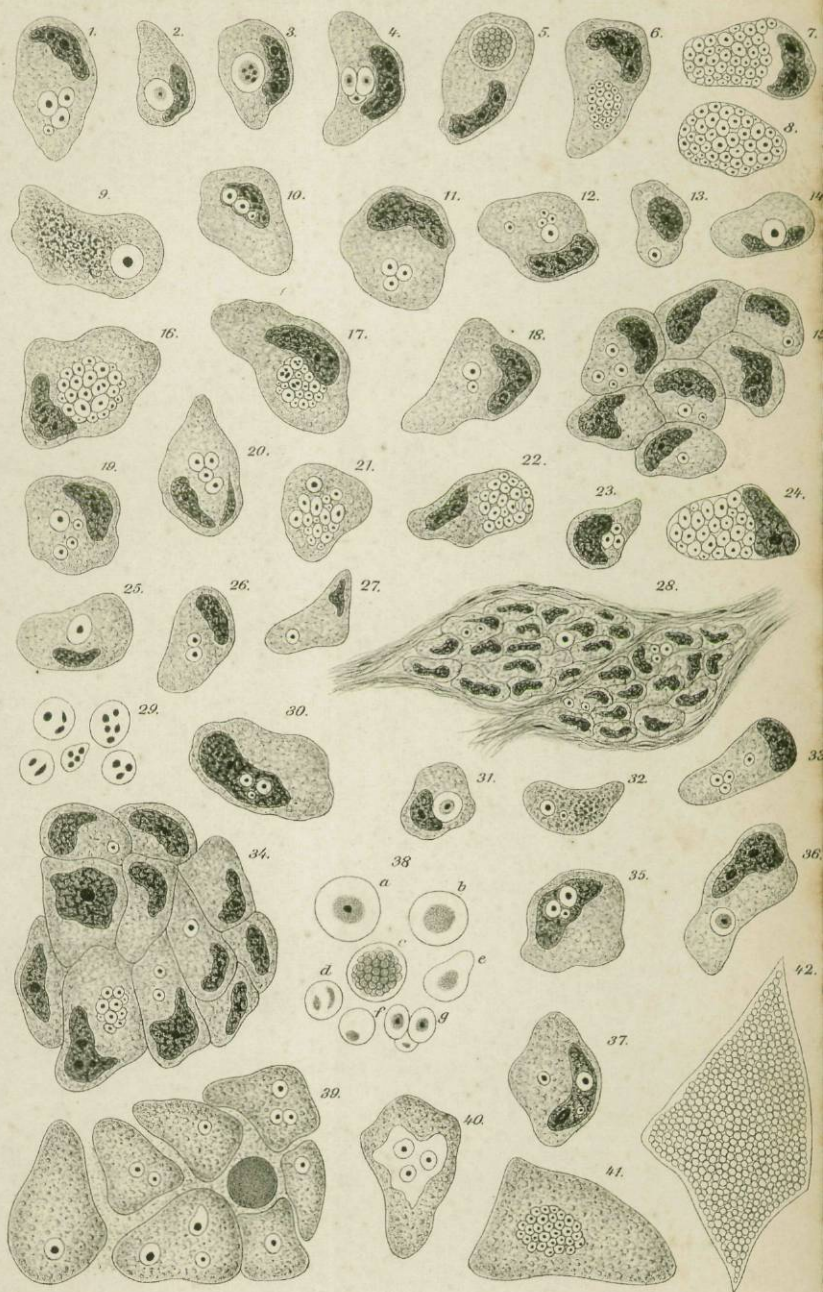
A' abertura d'esta cavidade notaram-se fortes adherencias peritoneaes, entre as ansas intestinaes, estomago, vesicula biliar e diaphragma, formando todas as visceras um bloco unico e compacto. O grande epiploon, attingido pelo processo em toda a sua extensão, formava uma corda dura de 5 centimetros de diametro, além d'isso notavam-se por todo o intestino nodulos neoplasticos, tambem perceptíveis na pequena curvatura do estomago e no pancreas.

Do liquido da primeira paracentese fizeram-se no Laboratorio preparaçõs microscopicas com o fim de determinar a natureza do derrame e como

apparecessem grande numero de cellulas que fizeram suspeitar que se tratasse de um neoplasma maligno, nós fizemos immediatamente preparações que foram fixas pelo calor ou pela mistura alcool-ether e córadas por azul de Roux diluido em agua na proporção de 25 % ou pelo triacido d'Ehrlich diluido a 10 %.

As preparações revelaram grande numero de cellulas com vacuolos e em alguns pontos elementos perfeitamente identificaveis com as formas do 3.º grupo (figura 29).

Tendo-se inutilisado os blocos destinados aos cortes histologicos foi-nos impossivel confirmar esta observação que de resto nos parece de grande interesse.



EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Figuras 1 a 10 — Observação I — Carcinoma gastrico:

- Fig. 1 — Cellula d'um ganglio da pequena curvatura contendo 4 fórmas do 1.º typo.
- Fig. 2 — Outra cellula encerrando uma fórma unica do 2.º typo.
- Fig. 3 — Cellula cancerosa com uma grande fórma do 3.º typo.
- Fig. 4 — Grupo de 3 fórmas do 2.º typo repellido o nucleo da cellula hospedeiro.
- Fig. 5 — Grande fórma do 5.º typo collocada n'um diametro oposto ao nucleo.
- Figs. 6 e 7 — Fórmias do 4.º typo.
- Fig. 8 — A mesma fórma fóra da cellula.
- Fig. 9 — Cellula carcinomatosa encerrando uma fórma grande do 1.º typo e apresentando o nucleo reduzido a poeira chromatica.
- Fig. 10 — Fórmias intranucleares do 1.º typo.

Figuras 11 a 15 — Observação II — Carcinoma da mamma:

- Figs. 11 e 12 — Cellulas de um ganglio axillar apresentando varias fórmas do 1.º typo.
- Fig. 13 — Cellula carcinomatosa com nucleo volumoso apresentando uma fórma unica do mesmo typo.
- Fig. 14 — Uma fórma grande do 1.º typo comprime o nucleo que está repellido para a periphéria.

Fig. 15 — Grupo de células carcinomatosas apresentando formas do 1.º tipo em numero variavel. Estão todas hypertrophiadas, mesmo as não parasitadas.

Figuras 16 a 18 — Observação III — Carcinoma do pulmão :

Figs. 16 e 17 — Células volumosas apresentando como inclusão duas grandes formas do 4.º tipo repellindo o núcleo para a periphéria e imprimindo-lhe a forma de um crescente.

Fig. 18 — Célula grande contendo apenas duas formas do 1.º tipo.

Figuras 19 a 21 — Observação IV — Carcinoma da mamma :

Fig. 19 — Célula arredondada de núcleo volumoso encerrando quatro formas do 1.º tipo.

Fig. 20 — Uma célula ovoide, contendo quatro formas do mesmo tipo ; apresenta dois núcleos.

Fig. 21 — Célula volumosa apresentando grande numero de parasitas e na qual o núcleo está reduzido a poeira chromatica disseminada por todo o protoplasma.

Figuras 22 e 23 — Observação V — Carcinoma da mamma :

Fig. 22 — Célula volumosa encerrando uma forma do 4.º tipo n'um diametro opposto ao núcleo.

Fig. 23 — Célula de núcleo volumoso contendo tres formas do 1.º tipo.

Figuras 24 a 27 — Observação VI — Carcinoma da gastrico :

Fig. 24 — Célula de um corte, fixo pelo alcool, completamente cheia de parasitas.

Figs. 25, 26 e 27 — Parasitas pouco abundantes — formas do 1.º tipo.

Figura 28 — Observação VII — Carcinoma da mamma :

Corte de um carcinoma da mamma, apresentando varias células parasitadas e outras muito hypertrophiadas.

Figura 29 — Observação X — Carcinose abdominal :

Figuras encontradas no liquido ascitico.

Figuras 30 a 33 — Observação VIII — Carcinoma da mamma :

Fig. 30 — Formas intranucleares do 1.º tipo.

Fig. 31 — Forma volumosa do 2.º tipo, repellindo o núcleo.

Fig. 32 — Cellula parasitada em que o nucleo está reduzido a poeira chromatica.

Fig. 33 — Cellula volumosa contendo quatro parasitas.

Figuras 34 a 37 — Observação IX — Carcinoma da mamma :

Fig. 34 — Conteúdo de um alveolo carcinomatoso, apresentando algumas cellulas parasitadas. Quasi todas as cellulas estão muito hypertrophiadas.

Figs. 35 e 37 — Fórmias intranucleares.

Fig. 36 — Volumosa cellula encerrando uma fórmula grandê do 2.º typo.

Figura 38 — Fórmias livres :

a — Fórmula grande do 2.º typo.

b, d, e, f — Fórmias do 1.º typo.

c — Fórmula do 5.º typo.

g — Grupo de fórmias do 2.º typo.

Figuras 39 a 42 — Córtes da Hernia da Couve — Inclusões da Plasmodiophora Brassicae :

Fig. 39 — Cópia de um desenho de Nawaschin. As cellulas vegetaes encerram grande numero de Plasmodias, de fórmula redonda ou arredondada com nucleo bem nitido.

Fig. 40 — Amiba.

Fig. 41 — Fórmula de reproducção.

Fig. 42 — Esporos da Plasmodiophora Brassicae, incluidos n'uma cellula vegetal, segundo Doflein (Fig. 18).



PROPOSIÇÕES

Anatomia — O appendice ileo-cecal é um órgão lymphoide.

Physiologia — A composição chimica da secreção gastrica é função da dos alimentos.

Pathologia geral — Ha só um processo morbido geral, a inflamação.

Materia medica — A corrente d'Arsonwal é o melhor alterante.

Anatomia pathologica — Não ha especificidade cellular.

Medicina operatoria — A operação de Faure é mais uma tentativa para vencer a inoperabilidade actual do cancro profundo do esophago.

Pathologia medica — A *sombra de globulo* caracteriza a hematuria renal.

Pathologia cirurgica — Tem-se abusado da therapeutica pelo ferro.

Partos — A operação de Porro é uma barbaridade inutil.

Hygiene — A doutrina do dualismo do bacillo da tuberculose, enunciada por Koch, é um attentado contra a hygiene.

Medicina legal — A reacção de Florence está para o esperma como a de Teichmann para o sangue.

Visto.
O PRESIDENTE,
A. Brandão.

Póde imprimir-se.
O DIRECTOR,
Moraes Caldas.